Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

Über die Serum-Lactatdehydrogenase und ihre Isoenzyme am Ende der Schwangerschaft, unter der Geburt und in den ersten Tagen des Wochenbettes.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Bruno Waidmann
aus Mörsingen (Württbg.)

1970

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. H. Roemer

Über die Serum-Lactatdehydrogenase und ihre Isoenzyme am Ende der Schwangerschaft, unter der Geburt und in den ersten Tagen des Wochenbettes.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Bruno Waidmann
aus Mörsingen (Württbg.)

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. Dr. K. Mayer
1. Berichterstatter:	Professor Dr. G. Jung (Professor Dr. H. Roemer)
2. Berichterstatter:	Professor Dr. D. Klaus

INHALTSVERZEICHNIS

I.	Einleitung	Seite 1
II.	Herkunft der LDH	3
III.	Eigenschaften der LDH	7
IV.	Die physiologische Bedeutung der LDH und ihrer Isoenzyme	10
V.	Synthese der LDH	18
VI.	Diagnostische Bedeutung	20
VII.	Methode (und Ergebnisse)	24
	1. Praktische Durchführung	26
	a) Stammlösungen	26
	b) Testansatz	26
	c) Meßbedingungen	28
	d) Auswertung	28
	2. Ergebnisse	34
	a) Mittelwerte und Standardabweichungen	34
	b) "Friedman-Test"	36
	c) "Wilcoxon-Test"	36
	d) "Mann-Whitney-Test"	37
VIII.	Diskussion	38
IX.	Zusammenfassung	48
X.	Literaturverzeichnis	50

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0015

I. Einleitung

In allen Körperzellen ermöglichen bestimmte Enzyme (Fermente) den Ablauf von Stoffwechselreaktionen.

Enzyme sind Biokatalysatoren, die biochemische Reaktionen stark beschleunigen, indem sie die beteiligten Moleküle in einen reaktionsbereiten Zustand bringen. Sie ermöglichen also die Einstellung des Gleichgewichtes.

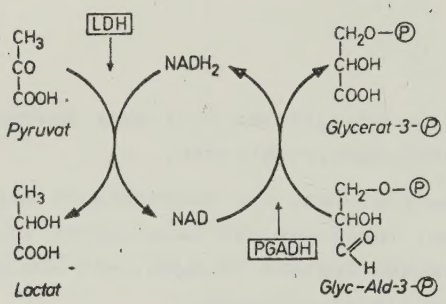
Die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen Pyruvat und Lactat katalysiert die Lactatdehydrogenase [1.1.1.27 L-Lactat: NAD Oxydoreductase (im Folgenden abgekürzt LDH)]

MEYERHOF hat dieses Enzym 1919 zum ersten Mal aus quergestreifter Muskulatur gewonnen.

1940 gelang es STRAUB, die LDH aus dem Rinderherzmuskel zu kristallisieren und 1943 das dazugehörige Co-Ferment Nicotinadenin-diphosphopyridinnucleotid (NADH) aus Herzmuskel zu isolieren.

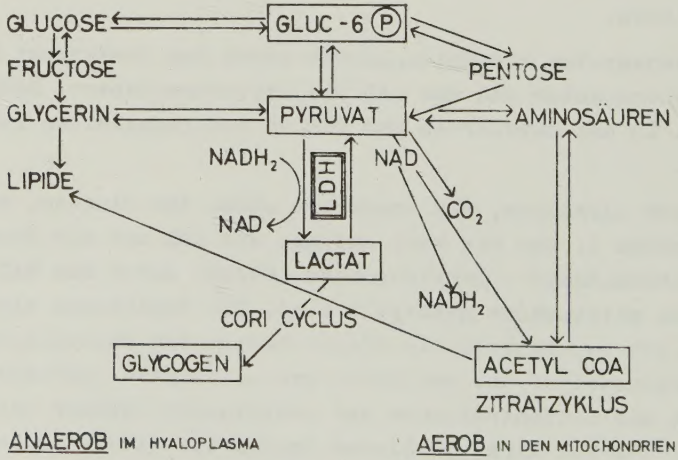
Im Redoxsystem Pyruvat $\leftrightharpoons$ Lactat dient das Co-Ferment NADH als Protonendonator und das NAD als Protonenacceptor. NADH geht dabei in den oxydierten und NAD in den reduzierten Zustand über.

Bei der Glykolyse, dem anaeroben Abbau der Glucose, sieht man in Schema 1, daß die zwei Enzyme, die LDH und die Phosphoglycerinaldehyd - Dehydrogenase (PGADH) durch das NAD - $NADH_2$ System miteinander gekoppelt sind. Die Reaktionen sind grundsätzlich reversibel. Die Pfeile deuten den physiologischen Reaktionsablauf an, der durch den Quotienten $NAD/NADH_2$ sowie durch die Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer bestimmt wird. Das NAD wirkt in diesem System als katalytisches Zwischenprodukt.



Schema 1: Hauptreaktion der Glykolyse (76)

Die Brenztraubensäure ist der wichtigste Metabolit im aeroben und anaeroben Kohlenhydrat-Stoffwechsel. In Gegenwart von O_2, wenn NAD überwiegt (siehe Schema 2), wird das Pyruvat über das Acetyl-CoA in den Citratcyclus eingeschleust. Liegt dagegen genügend $NADH_2$ vor, herrschen also anaerobe Bedingungen, wird das Pyruvat zu Lactat reduziert.



Schema 2: Modifiziert nach RAPOPORT (76)

Lactat entsteht bei anaeroben Verhältnissen besonders in der Erholungsphase eines Muskels. Es wird über den Blutweg in die Leber transportiert, wo über den "Cori-Zyklus" wieder Glykogen aufgebaut wird, das dann als Glucose von neuem den Zellen angeboten werden kann.

Das Lactat hat eine zentrale Stellung im Stoffwechsel. Entsprechend groß ist daher die Bedeutung der LDH, die sich in allen glykolysierenden Zellen, d.h. auch in allen menschlichen und tierischen Organen und sogar in verschiedenen Mikroorganismen nachweisen läßt (68). Die höchsten Enzymkonzentrationen fand man in Nieren, Skelettmuskulatur, Leber und Herzmuskel (99).

II. Herkunft der LDH

Innerhalb der Zelle findet sich die LDH wie auch andere glykolytische Enzyme vorwiegend im Cytoplasma.

Die Zellenzyme werden wie alle übrigen Proteine aus einzelnen Aminosäuren aufgebaut. Die Synthese findet in den Ribosomen des endoplasmatischen Reticulums statt. WEBER (102) hat versucht (siehe Schema 3), die komplizierten Vorgänge durch eine schematische Darstellung zu verdeutlichen.

Mitochondrien und Mikrosomen enthalten eindeutig das Enzym. Es besteht die Möglichkeit, daß es sich bei der mikrosomalen LDH um ein Protein handelt, das wie die meisten cytoplasmatischen Proteine an den Mikrosomen synthetisiert wurde und, ohne am Stoffwechsel dieser Partikel beteiligt zu sein, später in das Cytoplasma abgestoßen wird (30). SIEBERT fand bei Zellkernfraktionierungen auch, daß 5 - 10 % der Gesamtaktivität der LDH im Zellkern vorkommen. Interessant ist dabei die Beobachtung desselben Autors, daß NAD nur im Kern synthetisiert

wird. Durch Diffusion kommt es zu einer Gleichgewichtsverteilung von NAD im Kern und im Plasma. Man fand jedoch im Plasma eine wesentlich höhere $NADH_2$-Konzentration als im Kern. Außerdem fiel auf, daß die Mitochondrien eine relative Impermeabilität für $NADH_2$ aufweisen (85).

Für eine echte Neubildung von Enzymprotein sind die Genstrukturen der Zelle verantwortlich (12). Die an sich vorhandene Fähigkeit der Zelle, das Enzym zu synthetisieren, wird durch Hemmstoffe, "Repressoren", die auch vererbt werden, unterdrückt.

Nach der Theorie von MONOD und den Vorstellungen des Physikers SZILLARD (siehe Abbildung 1) nimmt man an, daß die sogenannten Repressoren wahrscheinlich Substanzen von Art der Ribonucleinsäuren sind, die am Ort der Enzymsynthese wirken, indem sie die Ablösung neu synthetisierter Proteine von der Matrix der Ribosomen verhindern. Dadurch wird das Ribosom und folglich auch die Synthese weiterer Enzymproteine blockiert.

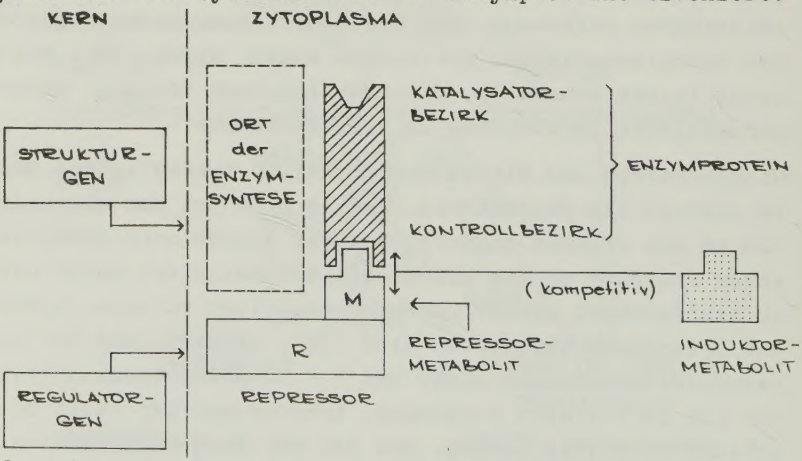


Abb 1: Schema zur Hypothese von SZILLARD (12)

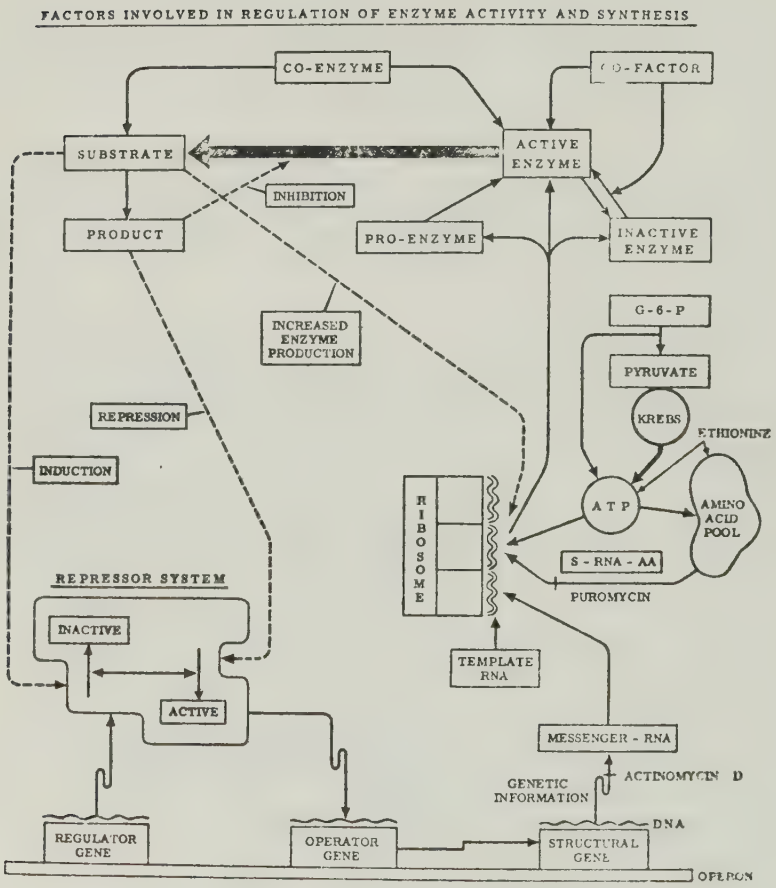
Der Induktor, eine Substanz, die mit der Wirkgruppe des Repressors nahe verwandt ist, kann diesen kompetitiv vom synthetisierten Protein verdrängen und dadurch die Ablösung des Proteins beschleunigen (12). Die Induktorwirkung wird von dem entsprechenden Enzymsubstrat ausgeübt, aber auch von Stoffen, die nicht Substrat sein können (7).

KARLSON (43) ist der Ansicht, daß entsprechend der Hypothese MONODS im normalen Zellkern die DNS-Synthese durch Repressoren blockiert wird. Diese Repressoren sollen nun durch die Hormonwirkung so verändert werden, daß die DNS-Synthese nicht mehr unterdrückt werden kann.

Das Zusammenspiel zwischen Induktion und Repression stellt einen Regulationsmechanismus dar, der die Synthese von Enzymprotein dem Bedarf anpaßt und deswegen große physiologische Bedeutung hat.

Nicht in allen Fällen wird die Konzentration eines Enzyms durch eine echte Neubildung erhöht. KNOX (44) geht von der Vorstellung aus, daß das aktive Enzym aus einer inaktiven Vorstufe gebildet wird, etwa durch Umwandlung eines inaktiven Monomers in ein aktives Polymer, wie z.B. bei der Hämoglobinbildung (siehe auch Abb 1).

Man kennt mehrere Beispiele dafür, daß die Aktivität eines Enzyms durch eine Beeinflussung seines Aggregatzustandes kontrolliert werden kann. Es wäre daher durchaus denkbar, daß die Enzymaktivität der LDH ähnlich gesteuert wird.



Schema 3: Faktoren, die die Enzymaktivität und -synthese regeln (nach G. WEBER (102)).

BÜCHER und PETTE (7) vermuteten, daß es neben sofort löslichen, sogenannten cytoplasmatischen Enzymen auch solche geben muß, die an Ultrastrukturen in irgend einer Form assoziiert sein müssen. Diese Hypothese konnten AMBERSON und Mitarbeiter (1) stützen, nachdem sie homogenisierte Skelett- und Herzmuskulatur untersucht und in Preß-Säften, Überständen nach primärer Homogenisation und nach Auswaschen verschiedene LDH-Aktivitäten gemessen hatten.

1966 fanden PARK und PENNINGTON (67) nach differentieller Zentrifugation die Hauptmenge des Enzyms in der löslichen Fraktion. Ein Jahr später kam KUEHL (47) nach Versuchen mit radioaktiv markiertem Leuzin zu dem Schluß, daß die LDH sowohl im Cytoplasma als auch im Zellkern, dort aber mit vielleicht etwas geringerer Rate, synthetisiert wird. Diese Folgerung beruht auf der Annahme, daß der Austausch löslicher Proteine zwischen Cytoplasma und Zellkern langsam sei und daher die nahezu identischen spezifischen Radioaktivitäten der LDH nicht erklären könne.

III. Eigenschaften der LDH

Der Aufbau von Submolekülen scheint nach neueren Befunden (76) eine allgemein gültige Gesetzmäßigkeit bei höher molekularen Proteinen zu sein (Quartärstruktur). So kann die LDH (MG 140 000) in vier Submoleküle mit je einem Viertel der Teilchenmasse zerlegt werden. Versuche mit Harnstoffzusatz, pH-Verschiebung, Veränderung der Ionenstärke, Frieren und Tauen ergaben, daß die Submoleküle im allgemeinen durch nicht konvalente Bindungen zusammengehalten werden.

Proteine, die aus Submolekülen bestehen, werden Oligomere, ihre Untereinheiten Protomere genannt. Bei vielen Eiweißen

führt der Übergang vom protomeren zum oligomeren Zustand zu einer wesentlichen Änderung ihrer funktionellen Eigenschaften in Form von allosterischen Effekten. Durch den Zusammentritt der Protomeren zu den Oligomeren ergeben sich auch kooperative Effekte hinsichtlich ihres räumlichen Aufbaus. Die Assoziation der Protomeren hat Veränderungen der Konformation zur Folge, wodurch eine quartäre Struktur festgelegt wird. Viele Enzyme zeigen allosterische Effekte dadurch, daß ihre Affinität zu einem Substrat, aber auch ihre maximale Reaktionsgeschwindigkeit im oligomeren und protomeren Zustand verschieden ist.

Eine Anzahl von Stoffen, sogenannte Effektoren, verändern den Anteil des Enzyms, der in der oligo- bzw protomeren Form vorliegt und bewirken dadurch Aktivierung oder Hemmung, ohne direkt mit dem Substrat zu konkurrieren.

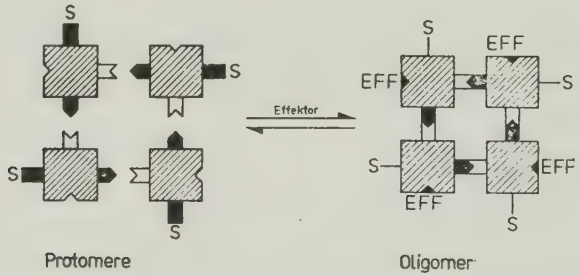


Abb 2: Verstärkte Oligomerbildung und Abschwächung der Substrataffinität durch den Effektor (S Substrat; EFF Effektor, nach RAPOPORT (76)).

Wird der Zustand eines Proteins geändert, werden dadurch die Interaktionen zwischen Enzym und Substrat beeinflußt.

Das Wesen der Enzymwirkung besteht darin, daß ein Austausch bestimmter Atomgruppen stattfindet. Wenn auch die Wirkgruppe,

das aktive Zentrum eines Enzyms, für die spezifische Enzymwirkung sehr wichtig ist, so kann nicht daraus gefolgert werden, daß der Rest des Enzymmoleküls bedeutungslos ist. Viele Beobachtungen weisen auch auf die Rolle solcher Teile des Enzymmoleküls hin, die anscheinend dem aktiven Zentrum fern sind.

Es gibt zahlreiche Enzyme, die mindestens 1 freie SH-Gruppe enthalten, deren Unversehrtheit für die Wirkung des Enzyms notwendig ist.

PFLEIDERER und Mitarbeiter (70) und TAKENAKA (91) fanden 1956 für die LDH aus den einzelnen Organen allgemein 3 - 4 Wirkgruppen-H_2S. Im Gegensatz dazu hatte WESTLING (92) bei der LDH aus Rattenleber errechnet, daß nur 2 Moleküle NAD-H_2S pro Mol angelagert werden.

Drei Jahre später berichtete PFLEIDERER (70) von Versuchen, die gezeigt hatten, daß die LDH durch quecksilberorganische Verbindungen stark hemmbar ist, da es 14 freie Thiolgruppen pro Mol Protein enthält, von denen 3 - 4 besonders reaktionsfähig und für die Wirkung des Enzyms verantwortlich sind. Interessant war dabei festzustellen, daß Thiole oder Kaliumcyanid die Hemmung der Enzymaktivität wieder völlig aufheben können.

IV. Die physiologische Bedeutung der LDH und ihrer Isoenzyme

Die Bestimmung der Enzymaktivitäten läßt gewisse Schlüsse auf den Stoffwechsel der Zellen zu. Im Laufe der Zeit konnte man die verschiedenen Aktivitäten in bestimmten Organen nachweisen und ein spezifisches "Organmuster" aufstellen. Tritt dieses Organmuster im Serum auf oder ist der Enzymspiegel einzelner Anteile erhöht, ist es möglich, über die Bestimmung der Enzymaktivitäten differentialdiagnostische Hinweise über ein geschädigtes Herkunftsorgan zu bekommen (31).

Man weiß schon seit einiger Zeit, daß es z. B. bei Leberschäden oder beim Herzinfarkt zu einem charakteristischen Anstieg der Transaminasen und besonders auch der LDH im Serum kommt, wie die Abb. 3a und 3b zeigen.

Dabei fällt auf, daß die LDH erst nach einigen Tagen ansteigt und auch langsamer wieder abfällt als die Transaminasen. Auf das Verhalten der H- und M-Anteile werden wir später ausführlich eingehen.

Der physiologische Enzymspiegel der LDH im Serum ist bedingt durch eine Reihe von Enzymquellen, wie sie z B die Blutzellen oder die Niere darstellen. Bei Bestimmungen der Gesamtaktivität sind diese Enzymquellen als Störfaktoren zu berücksichtigen.

Erst seitdem es gelungen ist, bei der LDH Isoenzyme nachzuweisen und ihre Aktivität zu bestimmen, ist es möglich, die Herkunft des Enzyms genauer zu analysieren und auf das geschädigte Organ zu schließen.

Noch vor einigen Jahren war man der Ansicht, daß Enzyme gleicher Wirkung auch in ihrer Eiweißkomponente, dem Apoenzym, identisch sein müßten. Es hat sich jedoch gezeigt, daß aus verschiedenen Geweben stammende Enzyme auch verschiedene biochemi-

sche und physikalische Eigenschaften besitzen. Dabei können sich sowohl die Enzyme aus verschiedenen Organen einer Tierart als auch aus gleichen Organen verschiedener Tierarten unterscheiden.

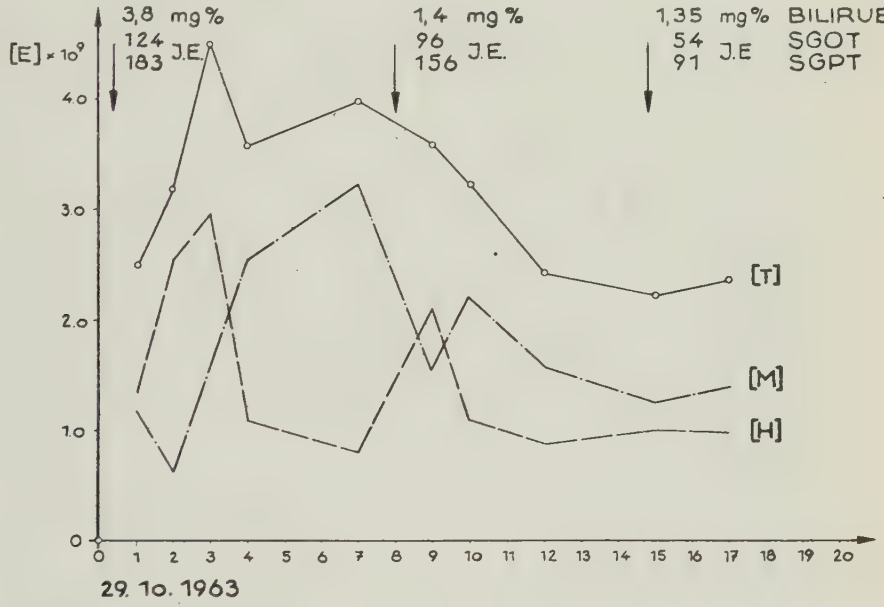


Abb 3a (52) T = Gesamtaktivität
M = LDH-M
H = LDH-H

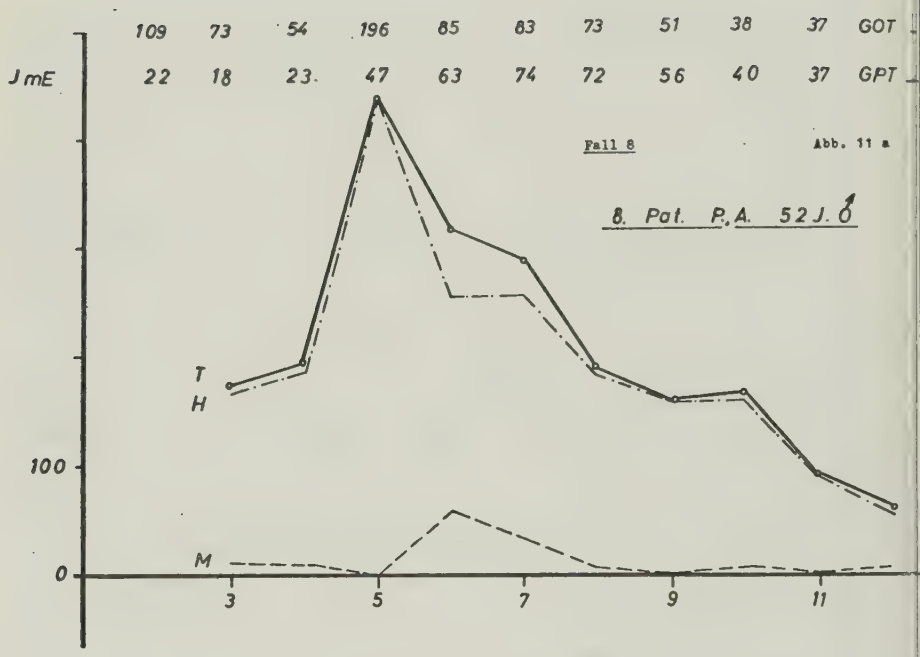


Abb 3b (82)

Elektrophoretische Untersuchungen haben gezeigt, daß eine aus einem bestimmten Gewebe gewonnene LDH häufig kein einheitliches Enzym darstellt, sondern sich aus mehreren elektrophoretisch verschieden rasch wandernden Komponenten zusammensetzt. Sowohl die Anzahl der Komponenten als auch ihre quantitative Verteilung ist in den einzelnen Organen unterschiedlich (108). Daraus ergeben sich die gewebsspezifischen Unterschiede im Verhalten des Enzyms.

HESS (31) wies als erster darauf hin, daß diese Heterogenität der LDH zur Enzymdiagnostik verwendet werden kann. MEISTER (60) vertrat schon 1950 die Ansicht, daß die LDH heterogen strukturiert sein muß. NIELANDS (63) gelang es zwei Jahre später aus kinderherzmuskulatur kristallisierte LDH elektrophoretisch in 2 verschiedene Komponenten aufzuspalten. Die beiden Komponenten unterschieden sich außerdem deutlich in der Ausfällung, bei der kinetischen und bei der Spektralanalyse.

WIELAND und PFLEIDERER (104) erbrachten 1957 nach der Trägerelektrophorese biologischer Zellextrakte den Beweis, daß sich die LDH in fünf enzymatisch aktive Fraktionen auftrennen läßt.

Im Sperma fand man außerdem eine LDH - X, die wahrscheinlich durch den haploiden Chromosomensatz bedingt ist (98). Die fünf Banden scheinen beim Menschen und bei den meisten Säugetieren die Regel zu sein. Im Widerspruch dazu stehen die Befunde von HAUPT und GIERSBERG (25), die nur 3 Banden fanden.

PFLEIDERER und JECKEL (69) fiel bei den elektrophoretischen Untersuchungen der kristallisierten LDH aus Herz- und Skelettmuskel auf, daß ein beachtlicher Ladungsunterschied der beiden Organ-LDHs vorlag.

Weitere Studien an kristallisierten LDH-Präparaten aus Schweine- und Rinderherz auf der einen und Kaninchen- und Rattenskelettmuskulatur auf der anderen Seite zeigten, daß die verschiedenen Enzympräparate das gleiche Molgewicht, dieselbe Zahl von Wirkgruppen und die gleiche Substratspezifität hatten. Dagegen fanden sie, daß sich die beiden Enzymgruppen unterscheiden: in der Michaeliskonstanten bei Brenztrauben- und Milchsäure, in der Umsatzzahl, verschiedenem pH Optimum, dem Temperatur-Koeffizienten und im elektrophoretischen Verhalten.

Daraus schlossen die Autoren auf die Heterogenität und Organspezifität der LDH, wobei ein Herzmuskel- und ein Skelettmuskeltyp unterschieden werden kann.

MARKERT und MØLLER (55) prägten 1957 den Begriff Isoenzym für Proteinkörper, die die gleiche Substratspezifität haben, sich aber in Reaktivität, Struktur und Ladung unterscheiden.

Einer ganzen Anzahl von Arbeitsgruppen gelang es in der Folgezeit, die Isoenzyme der LDH darzustellen: elektrophoretisch (23), elektrophoretisch auf Agargel (107), chromatographisch mit Hilfe der Absorptionsmethode (34), immunologisch mit Antiseren (64, 108) und durch thermische Inaktivierung (73, 108, 109).

Man fand außerdem Unterschiede in der Substrataffinität für Pyruvat (29, 73, 108) und eine unterschiedliche Michaeliskonstante (29, 35, 97).

PFLEIDERER und WACHSMUTH (72) hatten 1961 die prozentuale Aktivitätsverteilung der LDH in Extrakten menschlicher Organe von Erwachsenen durch Hochspannungselektrophorese auf Membranfolien bestimmt.

Tabelle 1 (71), die auch Werte von normalen und schwangerem Uterus (nach GEYER (21)) enthält, zeigt, daß die einzelnen Organe ein charakteristisches, von anderen deutlich unterscheidbares Verteilungsmuster besitzen. Danach kann man 3 Organgruppen mit einer spezifischen Verteilung der 5 Isoenzyme aufstellen.

1. Herz, Gehirn (Groß- und Kleinhirn) und Niere enthalten hauptsächlich I und II (60 - 90 %).

2. Glatte Muskulatur (Uterus, Oesophagus und Ureter), Hoden, Ovar, Knorpel, Lunge, Milz, Thymus, Prostata und Schilddrüse u.a. haben ihr Maximum bei III. Dabei ergibt sich zum Teil eine leichte Verschiebung gegen II und IV.

3. Skelettmuskulatur, Leber und Epidermis: hier beträgt der Anteil der Bande V 70 - 95 %.

Organ	Bande				
	I	II	III	IV	V
1. Herzmuskel	60	30	5	3	2
2. Erythrozyten	36	35	9	0	0
3. Leber	0,2	0,8	1	4	94
4. Skelettmuskel	3	4	7,5	9,5	76
5. Ureter	0	0	4	17	79
6. Normaler Uterus	4,6	24,8	44,0	22,4	4,2
7. Schwangerer Uterus	2,5	5,0	27,5	44,5	20,5

Tabelle 1: Prozentuale Aktivitätsverteilung der LDH - Isoenzyme in Extrakten menschlicher Organe von Erwachsenen. Nach PFLEIDERER und WACHSMUTH (71) 1 - 5, ergänzt nach GEYER (21), 6, 7.

Da die Autoren (72) in maligne entarteten Geweben das Maximum der Aktivität in den Banden IV und V fanden, schlossen sie daraus, daß die Gewebe der Gruppe 3 offensichtlich anaerobe Arbeitsbedingungen bevorzugen. Dieselbe Arbeitsgruppe (72) untersuchte Gewebe von Foeten, Neugeborenen und Kindern in verschiedenen Entwicklungsstadien und fanden, daß bei Foeten sich zum Beispiel das Maximum des Herzmuskels mit zunehmendem Alter von der III. zur I., beim Skelettmuskel von der III. zur IV. Bande verschiebt, sich jedoch in den ersten Lebensmonaten nicht mehr ändert. Bei Gruppe 2 fanden sie dagegen keine Verschiebung innerhalb der Banden. Daraus schlossen sie, daß in frühesten Entwicklungsstadien in allen Geweben ein einheitliches Aktivitätsmaximum der Bande III vorliegt.

Von dieser Bande III, der "primitiven" LDH der Eizelle aus, entwickelt sich mit der Ausdifferenzierung der einzelnen Organe das genetisch angelegte und stoffwechselabhängige Isoenzymmuster.

KAPLAN et al. (42) gelangten 1960 auf Grund ihrer ontogenetischen Untersuchungen zu der Ansicht, daß die LDH des Herzens sich während der Entwicklung wesentlich mehr ändert als die des Skelettmuskels.

Bei umfangreichen Studien an einer großen Anzahl von Organen gingen PFLEIDERER und WACHSMUTH (71) von der Vorstellung aus, daß bei einer Zellschädigung die LDH vermehrt im Serum auftritt und man aus der Aktivitätsverteilung des Enzymmusters auf das betroffene Organ oder Gewebe schließen kann.

Es hat sich jedoch gezeigt, daß die verschiedenen Banden einer aus einem Organ gewonnenen LDH wieder Unterschiede in ihrem biochemischen Verhalten aufweisen, so daß man bei der Untersuchung komplex zusammengesetzter Präparate nur einen Durch-

schnittswert der verschiedenen Komponenten ermitteln kann.

Anders ist es dagegen bei dem kinetischen Verfahren zur Analyse der Isoenzymaktivitäten der LDH im Plasma und in Gewebsproben, das 1966 von HÖLZER und BINZUS (38) entwickelt worden ist. Wir haben bei unseren Isoenzymuntersuchungen diese Bestimmungsmethode gewählt, weil sie es erlaubt, die Aktivitäten der H- und M-Anteile der Gesamt-LDH selektiv zu bestimmen und ein genaues Enzymmuster zu ermitteln.

V. Synthese der LDH

1962 konnten CAHN und Mitarbeiter (8) nachweisen, daß es nur zwei genetisch reine Isoenzyme der LDH gibt, die LDH_1 und die LDH_5, die je durch ein besonderes Gen aufgebaut werden. Es ließen sich nämlich nur gegen diese beiden Antikörper gewinnen.

Auch MASTERS und HINKS (57) waren 4 Jahre später der Ansicht, daß für die Regulation der Biosynthese der LDH 2 unabhängige Strukturgene verantwortlich sein müssen.

Die LDH_1, die in der Elektrophorese am schnellsten wandert, wurde hauptsächlich aus dem Herzmuskel gewonnen und auch als H-Typ (LDH-H) bezeichnet, die LDH_5, weil sie hauptsächlich in der Leber und im Skelettmuskel vorkommt, entsprechend als M-Typ (LDH-M).

Jedes Isoenzymmolekül wird durch Kombination der beiden Untereinheiten "H" und "M" als Tetramer (Polypeptidbausteine) aufgebaut. Daraus ergeben sich chemisch 5 Kombinationsmöglichkeiten:

LDH_1	H H H H
LDH_2	H H H M
LDH_3	H H M M

LDH_4	H M M M
LDH_5	M M M M

MARKERT (54) bewies, daß die Isoenzymfraktionen 2, 3 und 4 nur Mischformen (Hybride) der reinen Bausteine "H" und "M" sind, denn unter bestimmten physikalischen und chemischen Bedingungen konnte man aus einem Gemisch der beiden reinen Isoenzyme LDH_1 und LDH_5 die Kombination aller 5 Isoenzymformen beobachten.

Die Hypothese von CAHN und Mitarbeitern (8), daß die LDH_1 und LDH_5 durch 2 verschiedene Gene aufgebaut werden, sowie das Kombinationsschema der Hybriden nach MARKERT wurde bestätigt als WIELAND et al. (106) mit der Peptid- und WACHSMUTH (100) durch die Aminosäureanalyse den biochemischen Beweis erbrachten.

NISSELBAUM et al. (64) und KAJEWSKI (75) bestätigten nach immunchemischen Untersuchungen auch den verschiedenen Antigen-Charakter der LDH_1 und LDH_5.

Die Hybriden der beiden genetisch reinen Isoenzyme sind je nach Stoffwechsellage am Aufbau eines Enzymmoleküls beteiligt (9). LDH_1, also vorwiegend H-Bausteine, findet sich im aeroben Milieu des Herzmuskels. In der Leber und im Skelettmuskel, wo die Glykolyse überwiegt und damit eine anaerobe Stoffwechsellage vorliegt, wird hauptsächlich LDH_5, also fast nur M-Bausteine, nachgewiesen.

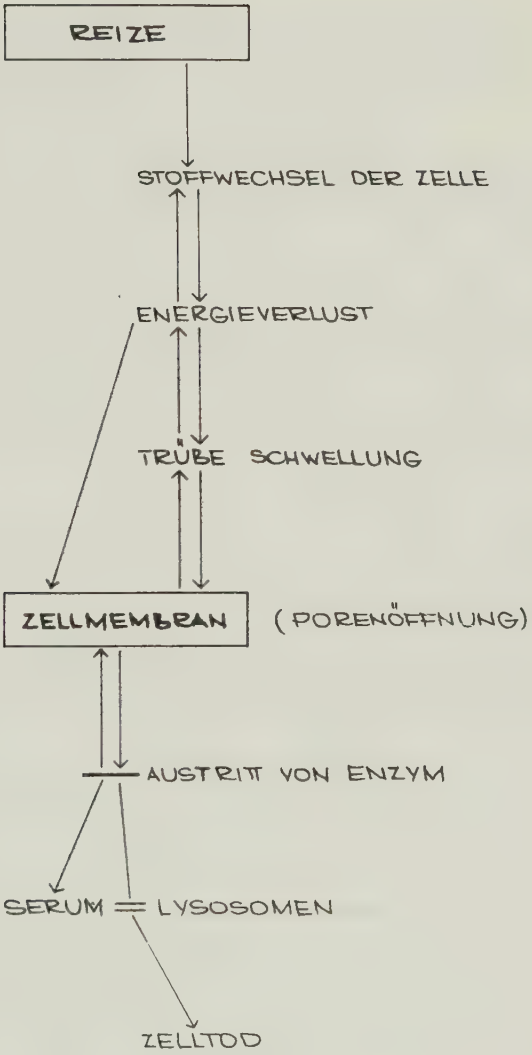
Eine Reihe von Autoren (41, 71, 105) glauben an die Möglichkeit, daß sich das ganze LDH-Isoenzymmuster aus dem Skelettmuskeltyp entwickelt, wie wir bereits oben angedeutet haben. Ebenso wie PFLEIDERER und WACHSMUTH (72) beobachteten auch MARKERT und MØLLER (55), daß die Aktivitätsrelationen der Ban-

den sich verschieben. Es liegt der Schluß nahe, daß das LDH-Verteilungsmuster und die Funktion und Leistung eines Gewebes zusammenhängen.

Im ausgewachsenen Organismus ist das Isoenzymmuster nicht mehr ontogenetisch beeinflußt, sondern Ausdruck der jeweils herrschenden Stoffwechsellage und der Funktion des betreffenden Organs (77). Daraus ergibt sich der diagnostische Wert und die klinisch-wissenschaftliche Bedeutung der LDH-Isoenzymbestimmungen.

VI. Diagnostische Bedeutung

Schon seit einigen Jahren weiß man, daß die Serum-LDH bei Zellnekrosen ansteigt. Wie eine Erhöhung der Enzymaktivität im Serum zu bewerten ist, hängt von der Dynamik der Enzymausschüttung, der -verteilung im extrazellulären Raum und Plasma, sowie außerdem von der Enzymelimination ab (18). Schema 4 nach GERLACH (18) zeigt, wie man sich den Mechanismus der Enzymabgabe der geschädigten Zellen vorstellt.


REIZE
STOFFWECHSEL DER ZELLE
ENERGIEVERLUST
TRÜBE SCHWELLUNG
ZELLMEMBRAN
(PORENÖFFNUNG)
AUSTRITT VON ENZYM
SERUM
LYSOSOMEN
ZELLTOD

SCHEMA 4

Der Bestand von Form und Struktur einer Zelle ist eine energetische Leistung. Eine Störung der Energieversorgung führt zu einem Enzymverlust, weil die komplizierte Membranstruktur ohne genügende Energie nicht aufrecht erhalten werden kann. Schon bei leichten Schädigungen der Zellwand und natürlich auch bei der physiologischen Zellmauserung treten die plasmalöslichen Enzyme (LDH und Transaminasen) in das Serum über.

Kennt man die Verteilungsmuster der Enzyme in den verschiedenen Organen, kann man den Grad einer Zellschädigung quantitativ und qualitativ bestimmen, indem man die Aktivität und Zusammensetzung der Serumenzyme bestimmt.

Man muß allerdings dabei berücksichtigen, daß das Enzymmuster im Serum kein getreues Abbild der intrazellulären Verhältnisse darstellt.

Sicher kann man aber davon ausgehen, daß jede Änderung des normalen Enzymspiegels im Serum biochemisch einen Krankheitsherd oder eine funktionelle Stoffwechselumstellung anzeigt.

Man beobachtete ein Ansteigen der LDH-Aktivität im Serum bei Myokardinfarkt (82), bei Hepatitiskranken (52), progressiver Muskeldystrophie (10), malignen Tumoren (35, 36), Anaemien (10, 31, 32) und Leukämien (13).

Erst nach der Entdeckung der Heterogenität und Organspezifität der LDH wurde es möglich, einen Krankheitsherd differentialdiagnostisch abzugrenzen, weil das Isoenzymmuster beim Übertritt von der Zelle ins Serum erhalten bleibt. Große diagnostische Bedeutung hat die Bestimmung des LDH-Isoenzymmusters bei Myokardinfarkten, Hepatopathien und Neoplasien erlangt. Allein mit Hilfe von enzymologischen Tests ist es z B möglich, eine Bluthämolyse oder einen frischen Herzinfarkt bei einem Leberkranken zu differenzieren.

Die Änderung oder der Rückgang der Hybridennatur kann als empfindlicher Indikator für einen Krankheitsverlauf oder den therapeutischen Erfolg angesehen werden, wie die Abbildungen 3a und 3b zeigen.

LDH-Isoenzymuntersuchungen haben in letzter Zeit auch in der Frauenheilkunde und Geburtshilfe an Bedeutung gewonnen. Es liegen unter anderem Enzymbestimmungen bei Genital- und Mammacarcinom (88), über das Ovar (40, 94) und die Uterusmuskulatur (20) vor.

Es gibt auch schon eine Reihe von Untersuchungen der LDH-Aktivität im Serum bei normaler und pathologischer Schwangerschaft. Dabei fanden KUBLI (46), SMITH (87), HODR (37), HAGERMAN (24) und RIMBACH (78) eine Erhöhung der Enzymaktivität im Serum, GEYER (19) und STARK (89) im Uterusmuskel. Befunde von LITTLE (50), BRODY (6) und KUBLI (46) stehen jedoch im Widerspruch dazu.

Über die Geburt und die erste Zeit post partum liegen bis jetzt erst wenige Angaben vor. RIMBACH (80) bestimmte die Gesamtaktivität in der Schwangerschaft und unter der Geburt. Er untersuchte jedoch zu den bestimmten Zeitpunkten nicht bei derselben Patientin. KONTTINEN und PYÖRÄLÄ (45) haben die einzelnen Untersuchungen zwar bei jeweils derselben Frau gemacht, die Tests liegen aber zeitlich relativ weit auseinander.

Die Ergebnisse der verschiedenen Autoren divergieren zum Teil beträchtlich. HODR (37) und ARMBORST und Mitarbeiter (3) untersuchten zum ersten Mal die Gesamtaktivität zu bestimmten Zeitpunkten der Geburt und des Wochenbettes. ANSORGE (2) berücksichtigte auch das Verhalten der Isoenzyme bei Normalpersonen, während der normalen und der gestörten Schwangerschaft, bei pathologischen Geburten und im Wochenbett.

Ziel unserer Untersuchungen war es, zu prüfen, ob die Erhöhung der Gesamtaktivität während der Schwangerschaft, unter der Geburt und im Wochenbett auf ein gleichmäßiges Ansteigen des "H"- und "M"-Anteils zurückzuführen ist, oder ob es zu einer Verschiebung der Relationen kommt. Wir untersuchten immer dieselbe Patientin zu bestimmten Zeitpunkten unter der Geburt und im Wochenbett.

Die kinetische Bestimmung der Isoenzyme (38) erlaubt eine genauere Analyse der Gesamtaktivität, weil man sogar bei Werten, die sich noch in der Norm bewegen, eventuell eine deutliche Verschiebung der verschiedenen Anteile nachweisen kann. HAIER (52) und RÖMER (82) haben nach dieser Methode die Isoenzyme der LDH im Serum von Hepatitiskranken bzw. bei Patienten nach Myocardinfarkt bestimmt.

VII. Methode (und Ergebnisse)

Die Grundbedingung der Aktivitätsbestimmung ist die Proportionalität von Reaktionsgeschwindigkeit und Enzymkonzentration. Der Bereich eines Reaktionsablaufes, in dem Proportionalität herrscht, hängt von den Mechanismen der jeweiligen enzymatischen Reaktion ab.

Die moderne Theorie der Enzymkinetik entwickelt von HENRI, MICHAELIS und MENTEN, BRIGGS und HALDANE, CHANCE und ALBERTY setzt die Meßbereiche fest und liefert damit die Grundlagen für die Technik der Aktivitätsbestimmung. Einer dieser Meßbereiche ist z. B. die Anfangsgeschwindigkeit (v_o), die bei Substratsättigung zur Aktivitätsbestimmung herangezogen werden kann.

Die Anfangs-v_o von LDH_1 (v_{o1}) und LDH_5 (v_{o2}) unterscheiden sich bei bestimmten Substratkonzentrationen (S), wie Abbildung 4 zeigt. Bei höheren Substratkonzentrationen als 2×10^{-4} M Brenztraubensäure ist die spezifische Aktivität der LDH_5 größer als jene von LDH_1; bei Substratkonzentrationen unter 2×10^{-4} M BTS ist es umgekehrt. Das bedeutet, daß die Reaktionskonstanten der LDH_5 größer sind als die der LDH_1.

Für v_{o1} wurde empirisch eine optimale Substratkonzentration von 2×10^{-4} M BTS und für v_{o2} eine solche von 5×10^{-5} M BTS gefunden (38). Dabei liegen die beiden BTS-Konzentrationen (S_1) und (S_2) unter den jeweiligen Substratmaxima, um eine Substrateigenhemmung zu vermeiden (siehe Abb 4).

Setzen wir voraus, daß die reaktionskinetischen Eigenschaften nur durch die Struktur der enzymatischen Wirkungsorte an den Bausteinen bestimmt werden, kann eine beliebige, in verschiedenen Isoenzymverteilungen realisierte Mischung von "H"- und "M"-Bausteinen wie eine Mischung aus LDH_1 und LDH_5 angesehen werden (38). Die enzymatische Aktivität ist dann die Summe der Einzelaktivitäten der beiden Isoenzymformen.

Es muß allerdings bemerkt werden, daß die heutigen Verfahren zu Registrierung von Enzymaktivitäten nur Messungen bei unphysiologisch hohen Substratkonzentrationen gestatten. Die Transformation der Resultate in den Bereich des Physiologischen ist daher nicht ohne Vorbehalte möglich (52).

1. Praktische Durchführung (38):

Bei 25 Schwangeren mens VI - IX und 40 Erst- und Mehrgebärenden wurde unter der Geburt bei einem Muttermund (MM) von 3 - 6 cm, bei vollständigem MM und beim Durchtritt der vorderen Schulter, außerdem am 1. und 3. Tag p.p. 2 cm^3 Venenblut aus einer möglichst ungestauten Cubitalvene entnommen. Es wurde zunächst ungerinnbar gemacht durch Zusatz von 10 µl Depot-Thrombocid, anschließend sofort etwa 1 min lang bei ca 15000 U/min zentrifugiert und das Plasma abgehebert. Das Plasma wurde sofort oder spätestens nach 12 Std (Aufbewahrung im Kühlschrank bei +4° C) verarbeitet.

a) Stammlösungen:

(S_1) = 2,1 x 10^{-4} M BTS-Lösung, hergestellt aus Na-Pyruvat in Sörensen-Phosphat-Puffer
pH = 7,5; μ = 0,05

(S_2) = 5,25 x 10^{-5} M BTS-Lösung, hergestellt aus Na-Pyruvat in Sörensen-Phosphat-Puffer
pH = 7,5; μ = 0,05

NADH-Lösung: 6 x 10^{-3} M NADH in Sörensen-Phosphat-Puffer
pH = 7,5; μ = 0,05

b) Testansatz:

2,85 ml der (S_1) - bzw (S_2)-Lösung entsprechend einer Testkonzentration von 2 x 10^{-4} M BTS bzw 5 x 10^{-5} M BTS werden mit 0,05 ml NADH-Lösung entsprechend einer Testkonzentration von 1 x 10^{-4} M NADH versetzt.

Die Reaktionslösung wird mit 0,1 ml Plasma (Serum) gestartet.

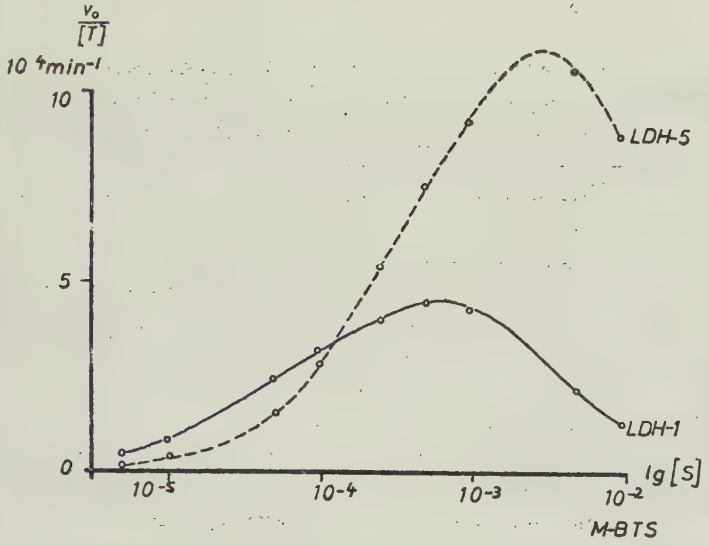


Abb 4 (38) Substratoptima für LDH_1 und LDH_5

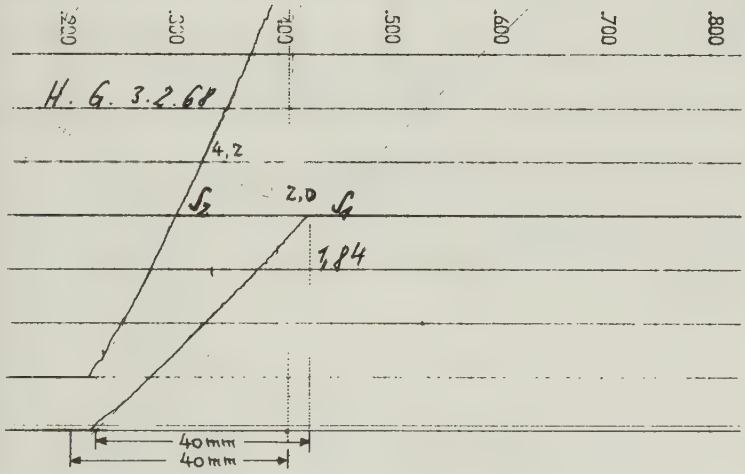


Abb 5: Aktivität-Zeit-Kurven für S_1 und S_2

c) Meßbedingungen:

Temperaturkonstante Reaktionslösungen und temperierter Küvettenhalter von 25° C.

Meßwellenlänge: λ = 366 mμ

Schichtdicke der Küvette: d = 10 mm

Photometer "Eppendorf" mit Transformationsstufe zur Registrierung von Extinktionswerten 0 - 0,25 E und Kompensationsschreiber zur Registrierung der Extinktions-Zeit-Kurve.

Papiervorschub: 2 cm/min^{-1}.

Zur Kontrolle der Stammlösungen und des Testansatzes wurden in unregelmäßigen Abständen Doppelbestimmungen durchgeführt.

d) Auswertung (38, 53):

Da sich die Umsatz-Zeit-Funktionen von (S_1) einerseits und (S_2) andererseits im Bereich kleiner Umsätze für die Isoenzyme LDH_1 und LDH_2 identisch verhalten, kann diese Funktion zur Berechnung der Anfangsgeschwindigkeit (v_o) herangezogen werden. Wird nämlich der bei einem bestimmten Zeitpunkt ermittelte Umsatz durch die Zeit dividiert, so ergibt sich eine Geschwindigkeit, die um den Faktor "g" kleiner ist als v_o (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2

Abhängigkeit des korrigierten Umsatzes $u_t \cdot g$ als Funktion des tatsächlichen Umsatzes u_t zum Zeitpunkt t nach dem Start der Reaktion für (S_1) und (S_2) (38).

u_t (M-BTS)	ΔE d = 1 cm == 366nm	Δl (mm)	$u_{t1} \cdot g_1$	$u_{t2} \cdot g_2$
$3{,}79.10^{-6}$	0,0125	10	$3{,}85.10^{-6}$	$3{,}96.10^{-6}$
$7{,}58.10^{-6}$	0,0250	20	$7{,}83.10^{-6}$	$8{,}30.10^{-6}$
$1{,}14.10^{-5}$	0,0375	30	$1{,}19.10^{-5}$	$1{,}32.10^{-5}$
$1{,}52.10^{-5}$	0,0500	40	$1{,}62.10^{-5}$	$1{,}85.10^{-5}$
$1{,}90.10^{-5}$	0,0625	50	$2{,}05.10^{-5}$	$2{,}46.10^{-5}$

Δ E = Extinktionsdifferenz bei = 366nm. Schichtdicke 1 cm.

Δ l = Differenzhöhe bei Registrierung mit Meßbereich 0-0,25E auf 200 nm Registrierbreite.

Da der Faktor "g" nur vom Umsatz abhängig ist, kann die Anfangsgeschwindigkeit nach folgender Formel berechnet werden:

$$v_{o1} = \frac{ut_1 \cdot g_1}{t_1} \qquad v_{o2} = \frac{ut_2 \cdot g_2}{t_2}$$

An einem Beispiel erläutern wir das praktische Vorgehen. Für beide Kurven bestimmt man die Zeit, welche vom ersten sicher definierten Punkt der Aktivität-Zeit-Kurve bis zu einer jeweils festgesetzten Umsatzgröße vergeht. Wir haben

bei einer kontinuierlichen Messung im Meßbereich, 0 - 0,25 Extinktion, eine Strecke genommen, die 40 mm des Registrierpapiers entspricht (Abb 5). Nach der Tabelle ergibt sich dann für $ut_1 \cdot g_1$ ein Wert von 1,62 . 10^{-5} und für $ut_2 \cdot g_2$ entsprechend 1,85 . 10^{-5}.

Erhält man bei einem Papiervorschub von 2 cm . min^{-1} eine Umsatzzeit von 2,0 min (siehe Abb 4), resultiert daraus eine Anfangsgeschwindigkeit (v_{o1}) von : $\frac{1,62.10^{-5}}{2,0} = 8,1.10^{-6}$.

Berücksichtigt man die Verdünnung, ergibt sich eine Gesamtenzymmenge von : 243,00 ImE. +)

Bei einer Umsatzzeit von 4,2 min errechnet man eine v_{o2} von : $\frac{1,85.10^{-5}}{4,2} = 4,42.10^{-6}$.

Den Anteil von LDH-H und LDH-M erhält man aus dem Verhältnis $v_{o1} : v_{o2}$. In unserem Beispiel ergibt einen Wert von : 1,85.

Nach Abbildung 5 entspricht dies bei einem relativen LDH-H-Anteil von 0,63 einer prozentualen Verteilung von : 63 % LDH-H und 37 % LDH-M.

+) ImE = Intern. Milli-Einheit = E/ml/25° C/1 µMol/min.

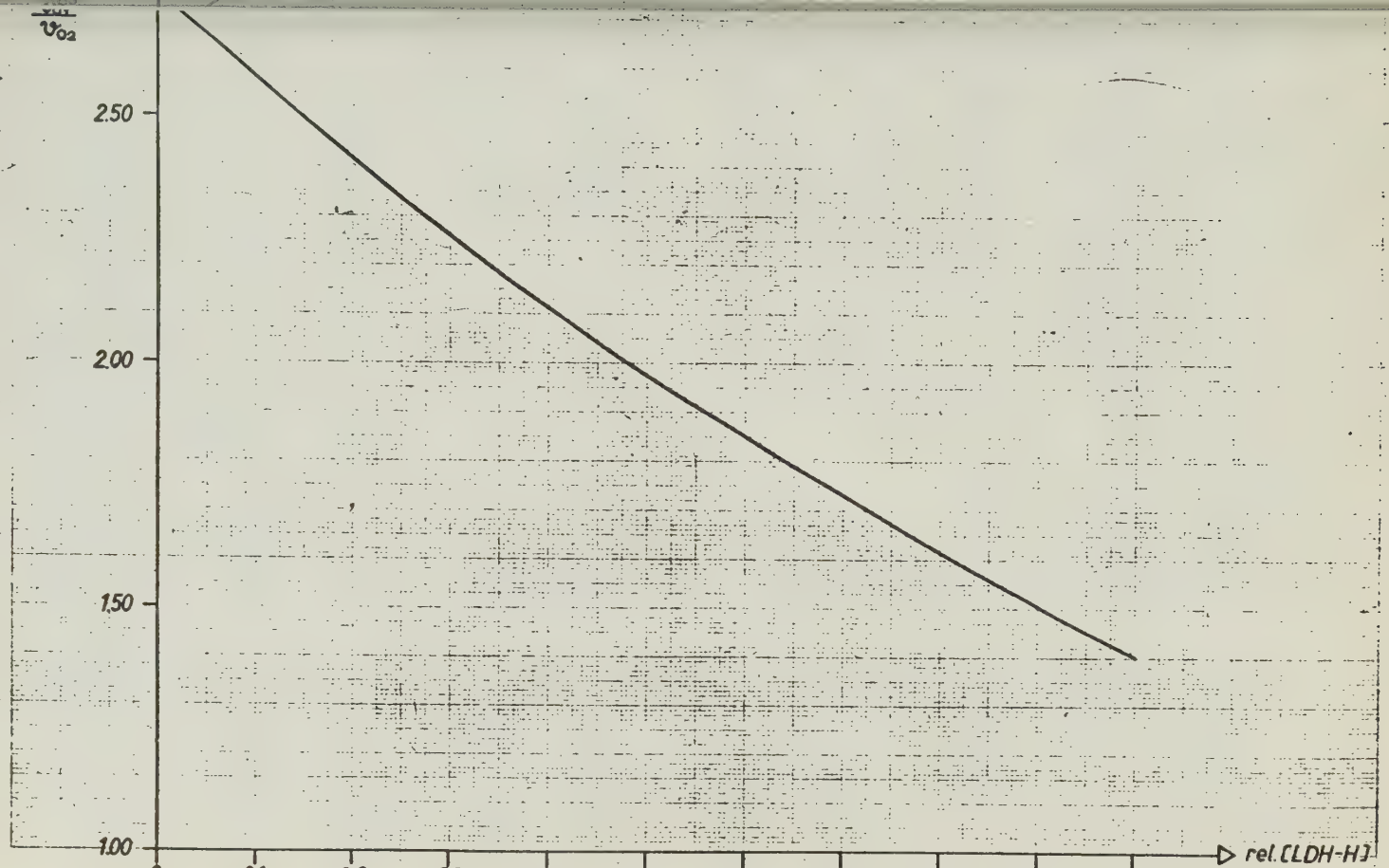


ABB. 6(53) Human-LDH

$[R] = 1 \cdot 10^{-4}$ M-NADH; $[S_1] = 2 \cdot 10^{-4}$ M-BTS; $[S_1] = 5 \cdot 10^{-5}$ M-BTS
pH = 7.5; 0.05 M-Kaliumphosphat im Testansatz

16.5.68

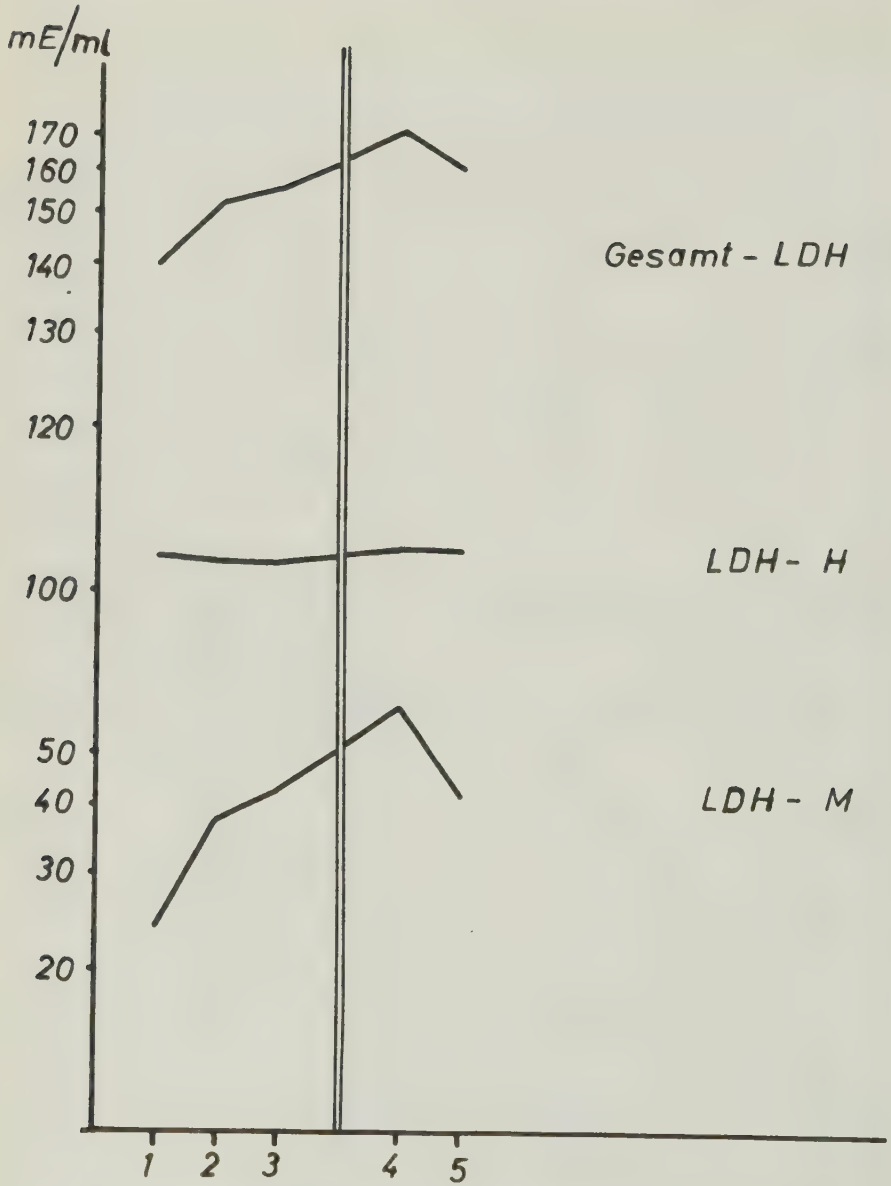


Abb 7: Aktivität von Gesamt-LDH sowie LDH-H und LDH-M während der Geburt und im Wochenbett: 1. Beginn der Eröffnungs-, 2. Ende der Eröffnungs-, 3. Ende der Austreibungsperiode, 4. erster, 5. dritter Wochbettstag.

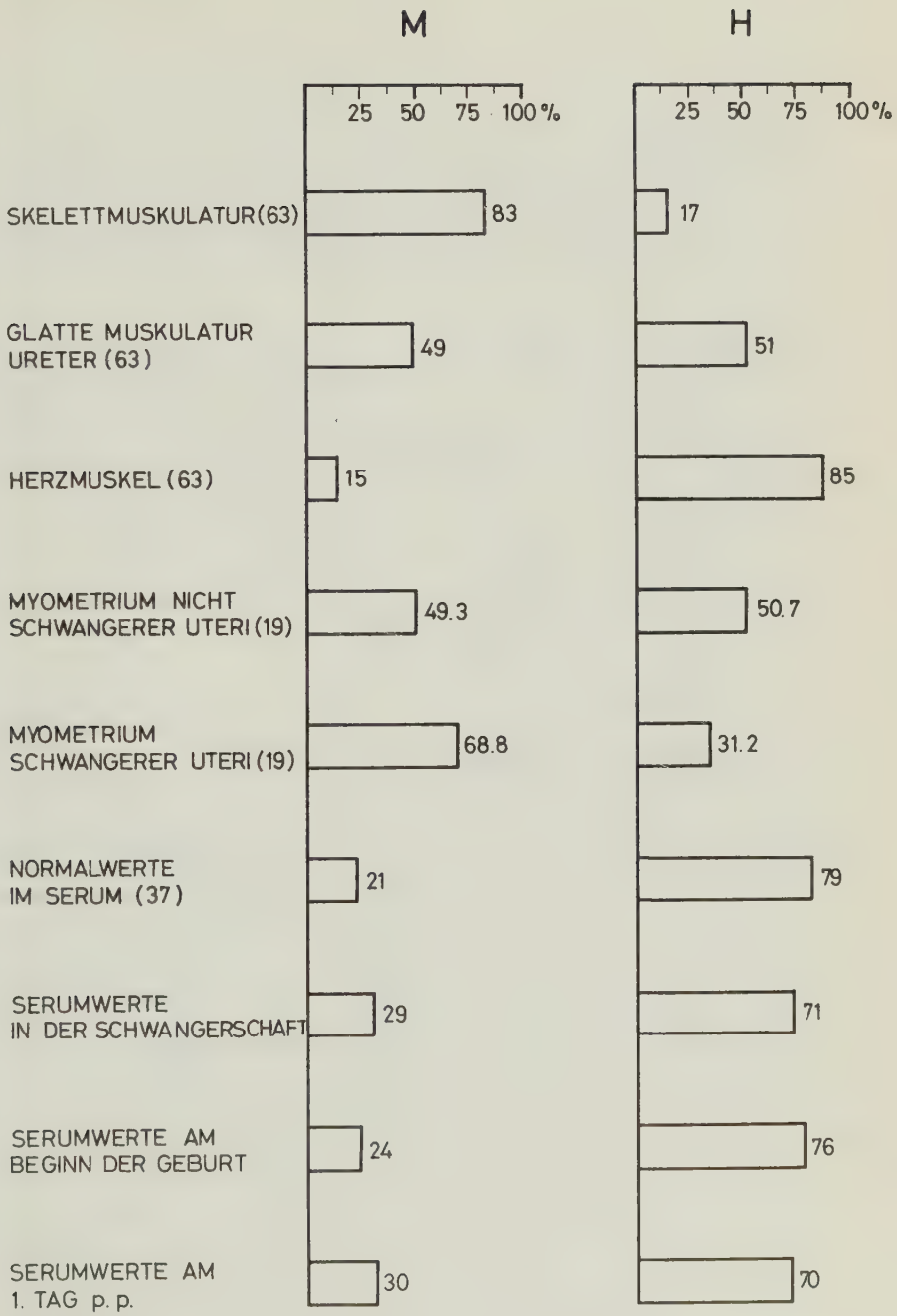

M
H
25 50 75 100 %
25 50 75 100 %
SKELETTMUSKULATUR (63)
83
17
GLATTE MUSKULATUR URETER (63)
49
51
HERZMUSKEL (63)
15
85
MYOMETRIUM NICHT SCHWANGERER UTERI (19)
49.3
50.7
MYOMETRIUM SCHWANGERER UTERI (19)
68.8
31.2
NORMALWERTE IM SERUM (37)
21
79
SERUMWERTE IN DER SCHWANGERSCHAFT
29
71
SERUMWERTE AM BEGINN DER GEBURT
24
76
SERUMWERTE AM 1. TAG p. p.
30
70

ABB. 8

2. Ergebnisse

Die Auswertung der Aktivitäts-Zeit-Kurven von 25 Schwangeren im letzten Drittel der Schwangerschaft und 40 Gebärenden und Wöchnerinnen brachte folgende Ergebnisse, die statistisch überprüft worden sind.

Statistische Bewertung:

Ia = Relativwerte, die sich aus dem Verhältnis der beiden Anfangsgeschwindigkeiten v_{o1} und v_{o2} errechnen und die prozentuale Verteilung von LDH-H und LDH-M angeben.

II = Gesamtaktivität in Internationalen Milleinheiten (ImE)

Schw = letztes Drittel der Schwangerschaft
- 1 = Muttermund (MM) 3 - 6 cm
- 2 = MM vollständig
- 3 = Ende der Austreibungsphase
- 4 = 1 Tag post partum (p p)
- 5 = 3 Tage p p

a) Mittelwerte und Standardabweichungen

Tabelle 3

	I			H (in %)	M (in %)
Sch	1,72	±	0,073	71,0	29,0
1	1,66	±	0,052	76,0	24,0
2	1,68	±	0,069	74,5	25,5
3	1,70	±	0,092	72,5	27,5
4	1,73	±	0,177	70,0	30,0
5	1,68	±	0,079	74,5	25,5
1-5	1,69	±	0,079	73,5	26,5

Tabelle 3 zeigt, daß die Mittelwerte der Relativanteile von 1 - 4 kontinuierlich ansteigen, d h, daß der "M"-Anteil zunimmt. Bei 5 sind sie wieder auf die Höhe von 2 abgefallen. Der Schwangerenwert "Sch" liegt zwischen 3 und 4.

II

Tab 4	Gesamt-LDH (ImE)			H-Anteil	M-Anteil
Schw	145,16	±	33,95	103,0	42,16
1	139,37	±	21,81	114,50	24,87
2	152,57	±	25,33	113,60	38,97
3	154,91	±	22,75	112,30	42,61
4	170,08	±	31,85	119,00	61,08
5	160,28	±	31,32	118,50	41,78
1-5	155,44	±	33,95	114,00	41,44

Nach Tabelle 4 ergibt sich ebenfalls ein Anstieg der Mittelwerte von 1 - 4. Abb 6 zeigt noch deutlicher als Tabelle 4, daß der Anstieg der Gesamtaktivität hauptsächlich durch eine Vermehrung des absoluten LDH-M-Anteils bedingt ist, während die LDH-H nahezu konstant bleibt.

Die höchste Gesamtaktivität wurde mit 170 ImE 1 Tag p p ermittelt, 3 Tage p p war der Mittelwert auf 160 ImE abgefallen. Der Schwangerschaftswert liegt zwischen 1 (MM 3-6cm) und 2 (MM vollständig).

b) Der "Friedman-Test" [+], eine zweifache Varianzanalyse mit Rangzahlen zeigte bei den Mittelwerten der Relativanteile (I) und denen der Gesamtaktivität (II) Signifikanz, d h daß die Mittelwerte nicht aus einer Grundgesamtheit stammen und sich tatsächlich und nicht nur zufällig unterscheiden:

I	II
$2\alpha = 0{,}025 - 0{,}01$	$2\alpha \ll 0{,}0005$

c) Der "Wilcoxon-Test" [++] bezieht sich hier auf abhängige Stichproben ($n > 25$), d h alle Meßwerte einer Zeile stammen von derselben Patientin:

Tabelle 5	I		II	
1 - 2	0,0082	s! [+++]	0,0001	s!
1 - 3	0,0158	s!	0,0001	s!
1 - 4	0,0019	s!	0,0001	s!
1 - 5	0,0968	-	0,0001	s!
2 - 3	0,2206	-	0,0256	s!
2 - 4	0,0708	-	0,0055	s!
2 - 5	0,2376	-	0,0384	s!
3 - 4	0,1635	-	0,0114	s!
3 - 5	0,2005	-	0,4841	-
4 - 5	0,0023	s!	0,0033	s!

+) Als Signifikanzniveau wurde $2\alpha = 0{,}05$ gewählt.
Der kritische Wert ist 0,05.

++) Als Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0{,}05$ gewählt.
Anm: Für den einseitigen (α) Test gilt, daß bei $P(\alpha) = 0{,}05$ sich die Werte signifikant unterscheiden. Bei $P(\alpha) = 0{,}05$ ist der Unterschied nur zufällig, und bei $P(\alpha) = 0{,}02$ sind die Werte homogen.

+++) s = signifikant

Tabelle 5 zeigt, daß sich die Relativwerte der beiden LDH-Anteile vom Beginn der Eröffnungsphase 1 (MM 3 - 6 cm) bis zum vollständigen MM (2) signifikant ändern; ebenfalls von 1 - 3 und 4 - 5. Alle übrigen Stichproben sind homogen.

Die Meßwerte-Differenzen der Gesamtaktivität der einzelnen Gebärenden sind bis auf eine Ausnahme alle hoch signifikant. Das bedeutet, daß die Gesamtaktivitäten sich unter der Geburt signifikant ändern.

Die Stichprobe 3 - 5 zeigt Homogenität, dies entspricht auch Abbildung 7, die zeigt, daß die Kurve der Gesamtaktivität bei 5 wieder etwa auf die Höhe von 3 abfällt.

d) Beim "Mann-Whitney-Test" +) (Vergleich zweier Mittelwerte) haben wir die Mittelwerte von Schwangeren (mens VI - X) mit denen von Gebärenden am Beginn der Eröffnungsphase (Schw - 1) verglichen.

Die Relativwerte (I) zeigten mit $\alpha = 0{,}0001$, daß sich die Mittelwerte von Schw - 1 nicht nur zufällig unterscheiden.

Die Mittelwerte der Gesamtaktivität (II) stammen jedoch alle aus einer Grundgesamtheit. Man kann daraus schließen, daß sich die Mittelwerte der Gesamtaktivität der LDH vom letzten Drittel der Schwangerschaft und dem Beginn der Eröffnungsphase nicht nachweisbar unterscheiden.

Im Gegensatz dazu weisen die Anteile von LDH-H und -M an der Gesamtaktivität zu den genannten Zeitpunkten signifikante Unterschiede auf.

+) Als Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0{,}05$ gewählt.

VIII. Diskussion

Will man die Ergebnisse von Enzymbestimmungen im Serum beurteilen, muß man berücksichtigen, daß Enzymprotein auf verschiedene Weise aus Organen oder Zellen austreten und zu einer Erhöhung des Enzymspiegels führen kann. Bei der physiologischen Zellmauserung tritt die LDH in das umgebende Serum aus (31). Dabei scheinen Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten und die intestinalen Mucosazellen die Hauptquellen der normalen Serum-LDH zu sein.

Die physiologische Bedeutung der Serumenzyme ist noch unklar. RIMBACH (78) glaubt, daß es sich um funktionsschwache, eliminierte Zellbestandteile handelt, die zu den Ausscheidungsorganen transportiert werden.

Wie wir bereits oben gesehen haben, wird die intrazelluläre Lokalisation von Enzymen durch die Undurchlässigkeit der Zellmembran aufrechterhalten; dies erfordert eine ständige energetische Leistung der Zelle. Schädigungen verschiedener Art, die den Energiestoffwechsel der Zelle beeinträchtigen, oder auch schon durch verstärkte funktionelle Beanspruchung der Zelle erhöhte Anforderungen an das intrazelluläre Energieangebot stellen, resultieren in Veränderungen der Zellstrukturen, welche die Freisetzung von Enzymen zur Folge haben (95).

HESS und RAFTOPOULO (33) sprachen 1957 von einer "physiologischen Undichte" der Zellgrenzflächen mancher Organe, die Enzymproteine reversibel austreten läßt. Sie hatten festgestellt, daß schon eine vorübergehende Stauung der Blutzirkulation am Oberarm zu einem LDH-Anstieg im Serum führte. Dieser Befund wurde 1960 von SCHMIDT und SCHMIDT (84) bestätigt. Die Autoren hatten entdeckt, daß bei schwerer Muskelarbeit neben ande-

ren Serumenzymen besonders auch die LDH ansteigt, und man ein Enzymverteilungsmuster findet, das dem des Skelettmuskels weitgehend angenähert ist.

HESS (31) ist der Ansicht, daß diese physiologische, muskuläre "Anaerobiose" zu einer stärkeren Permeabilität der Skelettmuskelzellen und zum sekundären Enzymaustritt führt. Es liegt nahe, daran zu denken, daß dies bei der Geburtsarbeit in ähnlicher Weise der Fall sein kann, wie wir gleich sehen werden.

Eine Steigerung der Serumaktivität zeigt sich am deutlichsten bei allen Krankheiten, die mit Zellnekrosen einhergehen, z.B. Myokardinfarkt, Lebererkrankungen, Nephritis, Leukämien, Perniciosa und Karzinome. Schon seit Jahren gewinnt diese Tatsache bei der Diagnose und Differentialdiagnose immer mehr praktische Bedeutung.

Die besondere Situation während der Schwangerschaft hat dazu geführt, daß in den letzten Jahren zahlreiche Autoren die LDH in der Gynäkologie und Geburtshilfe untersucht haben. Die Ergebnisse der einzelnen Untersucher divergieren jedoch zum Teil sehr stark und lassen sich nicht ohne weiteres vergleichen. MAGERMAN und WELLINGTON (24) fanden einen deutlichen LDH-Abfall um die Mitte des Cyclus und stellten eine auffallende Abhängigkeit des LDH-Spiegels von den einzelnen Zeitpunkten des Cyclus fest. RIMBACH (79) und MÖBIUS und Mitarbeiter (61) konnten die Cyclusabhängigkeit nicht bestätigen. Sie hatten allerdings nur eine relativ geringe Zahl von Frauen untersucht.

Schon 1954 hatten HILL und LEVI (36) als erste bei zehn normalen Schwangeren eine deutliche Erhöhung der LDH im Serum festgestellt. RIMBACH (80) fand 1960 im ersten Schwangerschaftsdrittel eine Erhöhung der Aktivität um 50 %, die sich bis zum Ende der Schwangerschaft noch auf 250 % der Normalwerte gesun-

der Nichtschwangerer steigerte. Ähnlich hohe Werte konnten wir bei keinem anderen Autor finden. Von einem deutlichen Aktivitätsanstieg berichtete jedoch eine ganze Anzahl von Untersuchern.

Nach Untersuchungen von LUH und HENKEL (51) steigt die LDH im Myometrium im Vergleich zu den übrigen Geweben während der Schwangerschaft deutlich an.

SMITH und Mitarbeiter (87) fanden bei 18 % der untersuchten Schwangeren eine leichte Erhöhung der Gesamtaktivität. PLAUCHE und MOSEY (74) berichteten von einem deutlichen Aktivitätsanstieg im Verlauf des letzten Schwangerschaftsdrittels, während HAGERMAN und WELLINGTON (24) bei etwa 50 % der Fälle sechs Wochen vor dem Termin eine Erhöhung fanden, FRIEDMAN und LAPAN (16) jedoch erst 4 Wochen vor der Geburt. ROMALIS und CLAMANN (83) berichteten von einem leichten Anstieg vor dem Termin mit einem Maximum am 5. Tag post partum.

Im Gegensatz dazu gaben eine ganze Reihe von Autoren für die LDH zu jedem Zeitpunkt der Gravidität unveränderte Werte im Verhältnis zu gesunden Nichtschwangeren an (49, 58, 90, 93).

Wir fanden bei 25 Schwangeren im letzten Drittel der Schwangerschaft einen Mittelwert von 145 ImE mit einer Standardabweichung von $\pm$ 34. Dieser Wert ist sicher erhöht, wenn man ihn mit den Normalwerten (nach dieser Meßmethode) von 84,0 $\pm$ 13,5 (39) vergleicht, auch wenn man die Werte von FEISSLI et al (14) von 56 - 144 ImE nimmt, die aus dem Material von drei unabhängig arbeitenden Kliniken statistisch ermittelt worden waren.

ANSORGE (2) bestimmte nach 44 Einzeluntersuchungen bei mens VIII - X einen Mittelwert von 149,3 $\pm$ 53,0 ImE. Dieser Wert stimmt mit unseren Ergebnissen ziemlich genau überein.

Unter der Geburt fanden einige Autoren bei einem Teil der Patientinnen einen Aktivitätsanstieg (24, 27, 45, 46, 50). Von einer deutlichen Erhöhung des Serum-LDH-Spiegels berichteten ARMBORST (1), ANSORGE (2), HAWKINS und WHYLEY (26) und HODR und Mitarbeiter (37). Letztere fanden am Ende der Geburt sogar einen doppelt so hohen Wert wie am Beginn.

Normale Serumwerte brachten die Untersuchungen von PLAUCHE und MOSEY (74). Dagegen fanden die nachstehend genannten Autoren im Wochenbett eindeutig erhöhte Werte (15, 50, 74, 87, 90).

Mit Ausnahme von ARMBORST (3) haben die oben genannten Autoren meist verschiedene Patientinnen zu nicht immer gleichen Zeitpunkten untersucht. Uns interessierte jedoch besonders die Dynamik der Enzymaktivität und der Anteil der Isoenzymwerte bei derselben Patientin zum genau definierten Zeitpunkt.

In Übereinstimmung mit HAGERMAN und WELLINGTON (24) und HODR (37) fanden wir am Beginn der Geburt (MM 3 - 6 cm) einen Wert der nur etwas höher liegt als der von gesunden Kontrollpersonen. Bei uns lag er noch etwas tiefer als der Schwangerenmittelwert von 145,16 $\pm$ 33,95, aber noch im Streubereich. Im Verlauf der Geburt stieg die Gesamtaktivität signifikant an. Sie erreicht etwa einen Tag p p ihren Gipfel und liegt am dritten Tag p p wieder auf der Höhe, die er am Ende der Austreibungsphase hatte (siehe Abb 7). Nach HAGERMAN (24) fällt der Enzymspiegel eventuell schon einige Stunden nach der Geburt ab. ARMBORST (3) ist dagegen der Meinung, daß die Enzymaktivität erst nach dem fünften Tag p p wieder abnimmt. Beide Autoren haben jedoch bei derselben Patientin innerhalb dieser Zeit keine fortlaufenden Messungen gemacht.

Nachdem eine ganze Reihe von Autoren über die Erhöhung der Serum-LDH in der Schwangerschaft, unter der Geburt und im Wo-

chenbett berichtet hatte, sind diese Befunde als gesichert anzusehen. Wenig ist dagegen über das Verhalten der Isoenzyme bekannt. Uns interessierten deswegen besonders die Werte der beiden LDH-H und LDH-M-Gruppen und ihr Anteil an der Gesamtaktivität zu den oben genannten Zeitpunkten.

Wie wir bereits gesehen haben, setzt sich die LDH-Gesamtaktivität aus den relativen Anteilen von LDH-H und LDH-M zusammen. 1966 hatten HAWKINS und WHYLEY (26) darüber berichtet, daß der LDH_1 (= LDH-H)-Anteil in der Schwangerschaft signifikant erhöht ist, während ANSORGE (2) beim Anstieg der Gesamtaktivität beide Anteile gleichmäßig beteiligt fand.

Unsere Untersuchungen zeigten in Übereinstimmung mit HAWKINS und WHYLEY (26), daß an der Gesamtaktivität in der Schwangerschaft ein vergleichsweise hoher Anteil von LDH-H beteiligt ist. Zu Beginn der Geburt ist der absolute H-Anteil noch höher als in der Schwangerschaft. Er ändert sich jedoch im weiteren Verlauf nicht mehr nennenswert, während der absolute M-Anteil unter der Geburt bis zu einem Gipfel am 1. Tag p p ansteigt und somit für die Erhöhung der Gesamtaktivität verantwortlich ist.

Es stellt sich hier die Frage, welche Ursachen zu einer Verschiebung des Enzym-Musters zugunsten des LDH-M-Typs führen und wie es dazu kommt, daß die Enzym-Veränderungen in der Zelle auch im Serum auftreten und wie sie zu beurteilen sind.

PFLEIDERER und WACHSMUTH (71) vertraten 1961 die Ansicht, daß aufgrund des Muskelreichtums des Uterus im Myometrium primär eine Verteilung im Sinne des anaeroben Typs (LDH_5) zu erwarten ist. Sie räumten jedoch ein, daß die LDH-Verteilung im Myometrium möglicherweise ein Gewebe charakterisiert, das keine Spezialisierung auf eine einseitige Stoffwechselleistung -

Atmung oder Glykolyse - durchgemacht hat.

GEYER (20) untersuchte 1968 Myometrium und fand bei nicht-schwangeren Uteri ein H:M-Verhältnis von 50,7 : 49,3 und bei schwangeren (von der 18. bis zur 40. Woche) eine Verteilung von 31,2 : 68,8. Der Autor schloß daraus, daß sich die elektrophoretisch langsam wandernden Isoenzyme (4 + 5) unter der Wirkung der Schwangerschaft relativ vermehren. Die Vermehrung und Verschiebung im Enzym-Muster soll mit dem Beginn des letzten Schwangerschaftsdrittels abgeschlossen sein.

ARMBORST und SCHMÜCKER (4) fanden ebenso wie GEYER (20) bei Uterus myomatosus und isolierten Myomen eine Erhöhung der LDH_5. GOODFRIEND und KAPLAN (22) beobachteten bei kastrierten Ratten nach Verabreichung von Oestradiol eine analoge Verschiebung des LDH-Isoenzymmusters im gesamten Uterus wie bei einer Schwangerschaft. KAPLAN (41) stellte nach Injektionen von Oestradiol in den infantilen Uterus des Kaninchens einen Anstieg des M-Typs sowohl im Endo- als auch im Myometrium fest. Diese Wirkung des Oestradiols blieb jedoch auf den Uterus beschränkt. Progesteron und Testosteron bewirkten lediglich einen geringen, proportionalen Anstieg des H- und M-Anteils.

WEBER und CANTERO (103) haben 1959 die Ansicht vertreten, daß eine Vermehrung der LDH durch die Vermehrung der Zellzahl und nicht durch die des Enzymgehalts der Einzelzelle bedingt ist. Dabei soll der LDH-Gehalt der Einzelzelle sogar erniedrigt sein. DUBRANSKY (11) fand im Corpus-Isthmus-Bereich des graviden Uterus eine Vermehrung der Muskelzellen um 70 %.

Die hormonelle Umstellung im Verlauf der Schwangerschaft bis zum Wochenbett (21, 24, 41) läßt zwar an eine langsame Anpassung des Uterus denken, erklärt jedoch nicht Veränderungen, wie sie im Verlauf der Geburt innerhalb weniger Stunden signifikant

nachzuweisen waren. Änderungen der Aktivitäten und Konzentrationen von Enzymen oder ganzen Enzymmustern kann der Mechanismus der Enzyminduktion zugrunde liegen. Dabei handelt es sich um die Neusynthese von spezifischem Enzymprotein, die durch verschiedene auslösende Faktoren in Gang gesetzt werden kann. Entsprechend dem Modell von JACOB und MONOD schließt sich in zeitlicher Aufeinanderfolge an die Stimulierung von DNS und M-RNS an den Genorten der weitere Verlauf der Proteinsynthese an. Diese Neusynthese erfordert aber ungefähr 18 Stunden, kommt also bei der Regulierung akuter Stoffwechselsituationen, wie z B dem Geburtsstreß, nicht in Betracht.

Neben der Wirkung von Hormonen kann z B auch ein erhöhtes Substratangebot auslösender Reiz einer Enzyminduktion sein. Es hat sich gezeigt, daß die Aktivität des M-Anteils durch einen Substratüberschuß weniger gehemmt wird als die des H-Anteils (48), d h daß die M-Form mehr Pyruvat reduziert und es somit zu einer gesteigerten Neusynthese dieses Anteils kommen könnte. Vielleicht spielt dabei auch die Tatsache eine Rolle, daß die physiologische Aktivität der LDH_1 doppelt so hoch ist wie die der LDH_5, denn setzt man voraus, daß in der Zelle eine ökonomische Regulation der Enzymproteinsynthese erfolgt, dann müßte bei hohen Substratkonzentrationen weniger Protein der M-Struktur synthetisiert werden, als es bei gleicher Stoffwechselleistung für die H-Struktur notwendig wäre (82).

Es könnten auch noch weitere allosterische Effekte, z B die Endprodukthemmung des Enzyms eine Neusynthese beeinflussen. Nicht in allen Fällen bedeutet jedoch eine Zunahme der Aktivität eines Enzyms auch eine echte Neubildung von Enzymprotein (12).

Nach einer Hypothese von KNOX (44) wird das aktive Enzym aus einer inaktiven Vorstufe gebildet, z B durch Umwandlung eines inaktiven Monomers in ein aktives Polymer.

WEBER (101) ist der Ansicht, daß die Isoenzyme je nach Stoffwechsellage in verschiedenen Synthese- oder Abbaustufen vorliegen, so daß eine schnelle Verschiebung im Muster möglich erscheint.

Bei der LDH ist nur die Aggregatform, das Tetramer, enzymatisch wirksam. Man könnte sich also vorstellen, daß die H- und M-Bausteine zwar in genügender Menge synthetisiert vorliegen, sich jedoch erst zu einem Tetramer kombinieren müssen, bevor sie enzymatisch wirksam werden. Die Kombination könnte wieder durch bestimmte Stoffwechselfaktoren, wie z B O_2-Mangel oder Substratüberschuß gesteuert werden. In diesem Falle würde die Erhöhung der Enzymaktivität im Gegensatz zur Enzyminduktion nicht durch Neubildung verursacht, sondern nur durch Aktivierung von bereits vorhandenem Enzymprotein.

KAPLAN (41) hatte schon 1963 entdeckt, daß in Muskeln mit hoher Kontraktionsaktivität, die ihre Aktivität rasch aus der Glykolyse gewinnen müssen, der M-Anteil stark ansteigt, während in Muskeln mit vorwiegender Haltefunktion das H-Enzym stärker zunimmt.

Diese Entdeckung würde vielleicht den relativ hohen H-Anteil, den wir während der Schwangerschaft gefunden haben, und das Ansteigen des M-Typs unter der Geburt erklären.

Die Geburtsbelastung mit Anaerobiose der Skelett- und Uterusmuskulatur führt anscheinend zu demselben passageren Anstieg der LDH-M im Plasma, wie ihn bereits NERDRUM und BERG (62) und HESS (31) bei anderen vorübergehenden starken körperlichen Anstrengungen gefunden haben.

Dabei dürfte auch die unterschiedliche Eliminationskonstante der LDH-Isoenzymfraktionen (17) eine Rolle spielen.

Wie weit sich die Enzymveränderungen, die sich in den Geweben abspielen, auch im Serum bemerkbar machen, weiß man noch nicht. HENDRICKS (28), MARX und GREENE (56) haben nachgewiesen, daß die Pyruvat- und Lactatkonzentration im Serum während der Geburt ansteigen. Für den Austritt der LDH aus der Zelle könnte man denselben Mechanismus voraussetzen, nämlich eine vorübergehend erhöhte Membrandurchlässigkeit wie beim Pyruvat und Lactat.

OTEY (66), MARX und GREENE (56) sind der Ansicht, daß die Grenzen des anaeroben Stoffwechsels am Ende der Schwangerschaft erreicht sind. Als Ausdruck der Anaerobiose nimmt der Quotient aus der Lactat- und Pyruvatkonzentration mit fortschreitender Geburt zu (66). Entsprechend dem Lactatüberschuß infolge der starken Geburtsbelastung würde es zu einer erhöhten LDH_5-Konzentration und zu einem vermehrten Übertritt aus der Uterusmuskulatur ins Serum kommen. Unsere Befunde weisen in diese Richtung.

Es wäre auch möglich, daß das Enzym nicht nur aus der Uterusmuskulatur stammt, sondern zum Teil auch aus der Placenta übertritt, denn sie besteht aus Zellen, die sich aus fetalem Gewebe ableiten und enthält hauptsächlich LDH_{3-5} (26). Einige Autoren (24, 59, 80) glauben, daß die Placenta als Enzymquelle durchaus in Frage kommt. Dieser Ansicht steht die Beobachtung von HODR und Mitarbeitern (37) und ATUK (5) entgegen, daß die Placentarmembran unter physiologischen Bedingungen für die LDH in beiden Richtungen undurchlässig ist.

Die Untersuchungen von ARMBORST u a (3) zeigten, daß die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, ein Enzym, das in der Placenta

in hohen Konzentrationen vorliegt und intrazellulär gleich wie die LDH lokalisiert ist, nicht anstieg, während die LDH-Aktivität zunahm.

Der Geburtsstress führt auch zu einer starken Anstrengung der Skelettmuskulatur (56). Dies legt den Schluß nahe, daß ein erheblicher Teil der LDH aus der Skelettmuskulatur stammen könnte.

Auf Grund unserer Ergebnisse können wir diese Möglichkeit nicht ganz ausschließen; der Aktivitätsgipfel am 1. Tag p p spricht jedoch dafür, daß das Enzym aus der Uterusmuskulatur stammt und besonders am Beginn der Involution ausgeschwemmt wird, kurz bevor die Lysosomen ihre volle Aktivität entfalten.

IX. Zusammenfassung

Das Vorkommen das biochemische Verhalten und die physiologische Bedeutung der LDH im menschlichen Organismus und Stoffwechsel werden diskutiert und die Ergebnisse einzelner Autoren mit unseren eigenen Befunden verglichen. Es folgen Überlegungen über die Isoenzyme der LDH und ihre Verteilung in den verschiedenen Geweben und unter bestimmten Stoffwechselverhältnissen.

Von der Vermutung ausgehend, daß sich die besonderen Verhältnisse in der Schwangerschaft und unter der Geburt in einer bestimmten Isoenzymverteilung ausdrücken, wurde die Gesamtaktivität und die Isoenzyme im Serum von 25 Schwangeren und 40 Gebärenden untersucht.

Mit Hilfe der von HÖLZER und BINZUS (38) entwickelten kinetischen LDH-Bestimmungsmethode, kann im doppelten optischen Test sowohl die Gesamtaktivität als auch die Isoenzymzusammensetzung bestimmt werden. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, daß mit Hilfe von zwei optimalen Pyruvatkonzentrationen der H- und M-Anteil selektiv bestimmt werden kann. Dadurch wird vermieden, daß eine LDH-Fraktion durch eine bestimmte Pyruvatkonzentration "bevorzugt" wird.

In der Schwangerschaft fanden wir erhöhte LDH-Werte. Dabei fiel der relativ hohe LDH-H-Anteil von 71,0 % an der Gesamtaktivität auf, der sich jedoch zum Teil durch die für LDH-M höhere Eliminationsrate (17) erklären läßt.

Im Gegensatz zu anderen Autoren (ANSORGE (2), ARMBORST (3), BRODY (6), KUBLI (46), LINTON (49), LITTLE (50)) lag bei uns der Gipfel der Gesamtaktivität am 1. Tag p p und war am 3. Tag p p wieder auf den Wert abgefallen, wie er am Ende der Aus-

treibungsphase nach Geburt der vorderen Schulter vorlag.

Wir konnten zeigen, daß der Anstieg der Gesamtaktivität unter der Geburt fast ausschließlich durch eine signifikante Erhöhung der LDH-M verursacht wird.

Der LDH-M-Anstieg im Serum läßt den Schluß zu, daß die Glykolyse im Uterusmuskel zu einer vermehrten Bereitstellung von LDH-M (Aktivierung, Synthese) führt und daß das Enzym aus dem arbeitenden Uterus und während der Involution ins Serum ausgeschwemmt wird.

X. LITERATURVERZEICHNIS

1 AMBERSON, W.R., F.J. ROISEN a. A.C. BAUER — The attachement of glycolytic enzymes to muscle ultrastructure. J.Cell.Comp. Physiol. 66, 71-90 (1965)

2 ANSORGE, S. — Untersuchungen der Lactatdehydrogenase - Isoenzyme in der pathologischen Schwangerschaft Med.Diss. Tübingen 1968

3 ARMBORST, V., B. ATMER u. H. MAAS — Veränderungen von Serum-Enzymaktivitäten unter der Geburt. Arch. Gynäk. 204, 147-156 (1967)

4 ARMBORST, V. u. A.-W. SCHMÜCKER — Die Isoenzyme der Lactatdehydrogenase im menschlichen Uterus und Ovar. Zbl. Gynäk. 90, 1753-1764 (1968)

5 ATUK, N.O., S.H. WAX, B.H. WARD, H.S. Mc GANGLEY, E.L. COREY a. J.E. WOOD jr — Observations of the steady state of lactic dehydrogenase activity across the human placental membrane. Am.J.Obstet. Gynec. 82, 271-276 (1961)

6 BRODY, S. — Serum lactic dehydrogenase activity during human pregnancy. Acta endocrinol. (Kopenhagen) 25, 101-104 (1957)

7 BÜCHER, Th. u D. PETTE — nach: AMBERSON, W.R., F.J. ROISEN a. A.C. BAUER The attachement of glycolytice enzymes to muscle ultrastructure. J. Cell. Comp. Physiol. 66, 71-90 (1965)

8 CAHN, R.D., N.O. KAPLAN L. LEVINE a. E.ZWILLING — Nature and development of LDH. Science 136, 962-969 (1962)

9 DAWSON, D.M., T.L. GOODFRIEND a. N.O. KAPLAN — Lactic dehydrogenases; functions of the two types. Science 143, 929-933 (1964)

10 DUBACH, U.C. — Organspezifische Diagnose mit Hilfe von Isoenzymen der Serum-Lactat-Dehydrogenase Schw.Med.Wschr. 92, 1436-1442 (1962)

11 DUBRANSKY, V. — Aufbau der Uteruswand Arch. Gynäk. 202, 42-43 (1965)

12 ENGELHARDT, A. — Endokrine und metabolische Steuerungsmechanismen der Enzymsynthese und der Enzymaktivität Med.Welt 1, 1-19 (1968)

13 ENGELHARDT-GÖLKEL, A. R. LÖBEL, W. SEITZ u J. WOLLER — Über das Verhalten und die Herkunft glykolytischer Serumenzyme beim Menschen und ihre diagnostische Bedeutung Klin. Wschr. 36, 462-468 (1958)

14 FEISSLI, S., G. FORSTER G. LAUDAHN, E. SCHMIDT u F.W. SCHMIDT
Normalwerte und Alterung von Hauptkettenenzymen im Serum. Klin.Wschr. 44, 390-396 (1966)

15 FRANZA, C. e. A. PALMIERI
Contributo allo studio delle attivita transaminasica, aldolasica, latticodeihydrogenasica e creatinfosfochinasica seriche in travalgio di parto. Arch. Ostet. Ginec. 69, 270-280 (1964)

16 FRIEDMAN, M.M. a. B. LAPAN
Variations of enzyme activities during normal pregnancy. Amer. J. Obstetr. Gynec. 82, 132-137 (1961)

17 FRÖHLICH, Ch. u E. KURRLE
Zur Bedeutung unterschiedlicher Eliminationskonstanten von LDH-Isoenzymfraktionen für die Zusammensetzung der SLD-Verteilungsmuster beim Menschen. Klin. Wschr. 47, 903-909 (1969)

18 GERLACH, U.
Pathophysiologische Grundlagen für die ärztliche Beurteilung von Enzymbestimmungen im Serum. Med. Welt 14, 740-746 (1964)

19 GEYER, H.
Wirkung der Schwangerschaft auf die LDH-Isoenzyme des menschlichen Uterusmuskels Klin.Wschr. 46, 390-391 (1968)

20	GEYER, H.	Isoenzyme der Lactatdehydrogenase im Uterusmuskel Klin. Wschr. 46, 443-445 (1968)
21	GEYER, H.	LDH-Isoenzyme und Schwangerschaft Klin. Wschr. 46, 446-447 (1968)
22	GOODFRIEND, T.L. a. N.O. KAPLAN	Effects of Hormone Administration on Lactic Dehydrogenase J. Biol. Chem. 239, 130-135 (1964)
23	GREGORY, K., P. PLAGEMANN, a. F. WROBLEWSKI	The electrophoretically distinct forms of mammalian LDH. II. Properties and interrelationship of rabbit and human LDH-Isoenzymes. J. Biol. Ch. 235, 2287-2292 (1960)
24	HAGERMAN, D.D. a. F.W. WELLINGTON	Serum lactic dehydrogenase activity during pregnancy and in the newborn. Amer. J. Obstet. Gynec. 77, 348-351 (1959)
25	HAUPT, J. u H. GIERSBERG	Untersuchungen über die Heterogenität und Organspezifität von Enzymen, speziell der LDH, innerhalb der Wirbeltierreihe Naturwissenschaften 45, 268-274 (1958)
26	HAWKINS, D.F. a. G.A. WHYLEY	The Nature of the Lactate Dehydrogenase and Isoenzymes in human placenta and related tissues. Clin. Chim. Acta 13, 713-719 (1966)

27 HEIMBACK, D.P. a. A.P. PREZYNA
Lactic dehydrogenase in pregnancy and the puerperinum
Amer.J.Obstet.Gynec. 79, 108-112 (1960)

28 HENDRICKS, C.H.
Studies on Lactic Acid Metabolism in Pregnancy and Labour.
Amer. J. Obstetr. 73, 492-506 (1957)

29 HESS, B.
DPN-Dependent Enzymes in Serum
Ann. N.Y. Acad. Sci. 75, 292-303 (1958)

30 HESS, B.
Untersuchungen über die Heterogenität der Serumfermente und ihre Verwendung als organspezifische Indikatoren zellulärer Funktionen.
Klin.Wschr. 36, 985-986 (1958)

31 HESS, B.
Enzyme im Blutplasma
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1962

32 HESS, B. u E. GEHM
Über die Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum.
Klin. Wschr. 33, 91-93 (1955)

33 HESS, B. u R. RAFTOPOULO
Über die Milchsäuredehydrogenase im menschlichen Serum, im Liquor cerebrospinalis und anderen Körperflüssigkeiten.
Dtsch. Arch. Klin. Med. 204, 97-106 (1957)

34 HESS, B. u S.J. WALTER
Absorptionsmethode zur Differenzierung der Lactatdehydrogenase sowie anderer löslicher Fermente und Proteine in Serum und Geweben.
Klin. Wschr. 39, 213-216 (1961)

35 HILL, B.R.
Further Studies of the Fractionation of LDH of Blood.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 75, 304-310 (1958)

36 HILL, B.R. a. C. LEVI
Elevation of a Serum Componente in Neoplastic Disease.
Cancer Res. 14, 513-516 (1954)

37 HODR, J.M. NOVAK u J. JANDA
Änderungen in der Aktivität der LDH bei Mutter und Frucht im Laufe der Geburt.
Arch. Gynäk. 203, 317-328 (1966)

38 HÖLZER, K.H. u G. BINZUS
Kinetisches Verfahren zur Analyse der Isoenzymaktivitäten von Lactatdehydrogenase im Plasma und Gewebsproben.
Klin. Wschr. 44, 1301-1307 (1966)

39 HÖLZER, K.H. u G. BINZUS
nach: RÖMER, H.B.
Untersuchungen über die qualitative Zusammensetzung der enzymatischen Aktivitäten der Lactatdehydrogenase und deren zeitliche Veränderungen im Blutplasma bei Myokardinfarkt.
Med. Diss. Hamburg (1966)

40 JUNG, G., E. KIDESS, A. CLOSS, V. UNBEHAUN
Isoenzyme der Lactatdehydrogenase beim Ovarialkarzinom.
Med. Welt 51, 3112-3115 (1967)

41 KAPLAN, N.O.
Advances in Enzyme Regulation Vol.2
Pergamon Press New York 1964

42 KAPLAN, N.O., M.M. CIOTTI, M. HAMOLSKY a. R.E. BIEBER
Molecular Heterogeńity and Evolution of Enzymes.
Science 131, 392-397 (1960)

43 KARLSON, P.
nach: ENGELHARDT, A.
Endokrine und metabolische Steuerungsmechanismen der Enzymsynthese und der Enzymaktivität.
Med. Welt 1, 1-19 (1968)

44 KNOX, W.E.
nach: ENGELHARDT, A. siehe oben 43

45 KONTTINEN, A. a. T. PYÖRÄLÄ
Serum enzyme activity in late pregnancy, at delivery and during puerperinum.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 15, 429-435 (1963)

46 KUBLI, F.
Die Serum-Milchsäuredehydrogenase in der Spätschwangerschaft und unter der Geburt.
Arch. Gynäk. 194, 406-412 (1961)

47 KUEHL, L.
Evidence for nuclear synthesis of lactic dehydrogenase in rat liver.
J. Biol. Chem. 242, 2199-2206 (1967)

48 LATNER, A.L., S.A. SIDDIQUI a. A.W. SKILLEN — Pyruvate inhibition of lactate dehydrogenase. Science: 154, 527-529 (1966)

49 LINTON, E.B., E.C. MILLER a. S. WINSTON-SALEM — Serum lactic dehydrogenase in pregnancy Amer. J. Obst. Gynec. 78, 11-12 (1959)

50 LITTLE, W.A. — Serum lactic dehydrogenase in pregnancy. Obstet. and Gynec. 13, 152-162 (1959)

51 LUH, W. u E. HENKEL — Konstante Proportionen von Enzymen des Emden-Meyerhof Weges im menschlichen Myometrium. Arch. Gynäk. 200, 201-206 (1964)

52 MAIER, K.P. — Differenzierung von H- und M-Formen der Lactatdehydrogenase im Plasma von Hepatitiskranken mittels einer einfachen kinetischen Methode. Med. Diss. Hamburg 1965

53 MAIER, K.P. — Pers. Mitteilung 1968

54 MARKERT, C.L. — Lactate dehydrogenase isozymes dissociation and recombination of subunits. Science: 140, 1329-1330 (1963)

55 MARKERT, C.L. a. F. MØLLER
Multiple forms of enzymes; tissue, ontogenetic, pecies specific patterns.
Proc. nat. Acad. Sci. 45, 753-763 (1959)

56 MARX, G., a. M. GREENE
Maternal lactate, pyruvate and excess lactate production during labor and delivery.
Amer. J. Obstet. Gynec. 90, 768-793 (1964)

57 MASTERS, C.J. a. M. HINKS
The regulation of lactate dehydrogenase biosynthesis during morphogenesis.
Biochim. Biophys. Acta (Amst) 113, 611-613 (1966)

58 MEADE, B.W. a. S.B. ROSALSKI
Serum encyme activity in normal pregnancy and the newborn.
J. Obstet. Gynec. Brit. Comm. 70, 693-700 (1963)

59 MEADE, B.W. a. S.B. ROSALSKI
The origin of increased maternal serum enzyme activity in pregnancy and labour.
J. Obstet. Gynec. Brit. Comm. 70, 862-868 (1963)

60 MEISTER, A.
Reduction of α, β, γ, -diketo an α-keto acids catalized by muscle preparations and by cristalline lactic dehydrogenase.
J. Biol. Chem. 184, 117-129 (1950)

61 MÖBIUS, W., A. BONOW u H. RENNECKE
Untersuchungen über das Verhalten einiger Serumfermente während des Zyklus.
Zbl. Gynäk. 85, 1337-1341 (1964)

62 NERDRUM, A.J. a. A.J. BERG
Changes of serum glutamic-oxaloacetic transaminase and serum lactic dehydrogenase on physikal exertion.
Scand.J.clin. Lab.Invest.: 16, 624-629 (1964)

63 NIELANDS, J.B.
Studies on LDH of Heart
I. Purity, Kinetics and Equilibra.
J. Biol. Chem. 199, 373-381 (1952)

64 NISSELBAUM, J. a. O. BODANSKY
Reaktions of human tissue lactic dehydrogenase with antisera to human heart and liver dehydrogenase.
J. Biol. Chem. 236, 401-404 (1961)

65 NISSELBAUM, J. a. O. BODANSKY
Immunochemical studies of functionally similar encymes.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 970-987 (1961)

66 OTEY E., V. STENGER, L. ZITZMAN a. H. PRYSTOWSKY
Further observations on the relationship of pyruvate and lactate in human pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 97, 1076-1081 (1967)

67 PARK, D.C. a. R.J. PENNINGTON — Intracellular distribution of some enzymes in normal sceletal muscle. Clin. Chim. Acta (Amst) 13, 694-700 (1966)

68 PFLEIDERER, G. — Isoenzyme der Lactatdehydrogenase in: Hoppe-Seyler/Thierfelder Handbuch der physiolog. chem. Analyse, Band VI A, 356-363 (1964)

69 PFLEIDERER, G. u. D. JECKEL — Individuelle LDH bei verschiedenen Säugetieren Biochem. Z. 329, 370-380 (1957)

70 PFLEIDERER, G., D. JECKEL u. Th. WIELAND — Bedeutung von SH-Gruppen für die enzymatische Aktivität. Studien an Milchsäuredehydrogenase aus Schweineherz. Arch. Bioch. Bioph. 83, 275-282 (1959)

71 PFLEIDERER, G. u. E.D. WACHSMUTH — Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactatdehydrogenase menschlicher Organe. Biochem. Z. 334, 185-198 (1961)

72 PFLEIDERER, G. u. E.D. WACHSMUTH — Die Heterogenität der LDH in Entwicklungsgeschichte und Pathologie des Menschen. Klin. Wschr. 39, 352-354 (1961)

73 PLAGEMAN P.G.W., GREGORY, K.F. a. F. WROBLEWSKI	The elektrophoretically separable lactic dehydrogenases in mammals. III. Influence of temperature on the lactic dehydrogenases in rabbits. Biochem. Z. 334, 37-48 (1961)
74 PLAUCHE, W.C. a. L.M. MOSEY	Serum lactic dehydrogenase levels in normal and pathologic pregnancies. Obstet. and Gynec. 20, 62-65 (1962)
75 RAJEWSKI, K.	Immunologische Studien an Lactatdehydrogenasen. Gesellschaft für physiol. Chemie 15. Mosbacher Kolloquium April 1964.
76 RAPOPORT, S.M.	in: Med. Biochemie VEB Verlag Volk und Gesundheit Berlin 1965
77 RICHTERICH. R., P. SCHAFROTH a. H.AEBI	Study of LDH-Isozyme Petterns of Human Tissues by Absorptionelution on Sephadex DEAE Clin. Chim. Acta No. 8, 178-192 (1963)
78 RIMBACH, E.	in: Enzymologie der Geburtshilfe Gustav Fischer Verlag Jena 1960

79 RIMBACH, E. in:
Bedeutung und Grenzen der Enzymdiagnostik im Serum.
Pallas Verlag, Dr E. Ganz Lochham/München (1961)

80 RIMBACH, E. u. A. BONOW
Fermentaktivitätsuntersuchungen in der Geburtshilfe.
Z. Geburtsh. u Gynäk. 154, 44-57 (1960)

81 RIMBACH, E. u. A. BONOW
Serumfermentuntersuchungen bei Karzinomkranken.
Zbl. Gynäk. 83, 987-993 (1961)

82 RÖMER, H.B.
Untersuchungen über die qualitative Zusammensetzung der enzymatischen Aktivitäten der Lactatdehydrogenase und deren zeitlichen Veränderungen im Blutplasma bei Myocardinfarkt.
Med. Diss. Hamburg (1966)

83 ROMALIS, G. a. A.D. CLAMAN
Serum enzymes in pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 84, 1104-1110 (1962)

84 SCHMIDT, E. u. F.W. SCHMIDT
Enzymbestimmungen im Serum zur Diagnose von Lebererkrankungen.
Hippokrates 31, 623-629 (1960)

85 SIEBERT, G.
Pers. Mitteilung 1968

86 SLATNER, A.L. a. A.W. SKILLEN
in:
Isoenzymes in Biology and Medicine.
Academic Press London- New York 1968

87 SMITH, J.J., E.D. SCHWARTZ a. M.K. SCHWARTZ
Lactic acid dehydrogenase during pregnancy and puerperinum.
Obst. and Gynec. 13, 163-165 (1959)

88 STARK, G. u K. IWANOV
Das Verhalten der Transaminasen (GOT, GPT) und -Dehydrogenasen (LDH, MDH) im Serum nach Cytostaticabehandlung bei Carcinompatientinnen.
Klin. Wschr. 42, 375-379 (1964)

89 STARK, G. u. J. STEINBACH
Die Transaminasen (GOT und GPT) und die Dehydrogenasen (LDH und MDH) in der Uterus- und quergestreiften Muskulatur.
Klin. Wschr. 43, 996-1000 (1965)

90 STONE, M.L., M. LENDING L.B. SLOBODY, S. SALZMAN a. J. MESTERN
Glutamic oxalacetic transaminase and lactic dehydrogenase in pregnancy.
II. Complications of pregnancy.
Amer. J. Obstrr. Gynecol. 83, 1342-1345 (1962)

[illegible], J. [illegible]. [illegible]
Lactic dehydrogenase
III. Mechanismen of the Reaktion.
[illegible]. Biol. Ch. 223, 157-170 (1956)

92 TERAYANA, H. a. C.S. VESTLING
Sodium sulfide inhibition of liver lactice dehydrogenase.
Bioch. Bioph. Acta 20, 586-587 (1956)

93 THEISEN, R., C.R. JACKSON, J. MONISEY a. B. PECKHAM
Serum enzymes in normal toxemic pregnancy.
Obstetr. a. Gynaecol. 17, 183-190 (1961)

94 UNBEHAUN, V., H. GABRIEL u. G. JUNG
Lactatdehydrogenase - Isoenzyme im Ovarium.
Med. Welt 18, 3116-3117 (1967)

95 UNBEHAUN, V., B. BOGUTH u. G. JUNG
Aktivität von Leucinaminopeptidase im Schwangerenharn.
Zbl. Gyn. 45, 1523-1526 (1968)

96 VILLE, C.A.
Some biochemical and genetic aspects of differenciation.
in: Advances in Enzyme Regulation Vol. 3
Pergamon Press New York (1965)

97 VESELL, E.S. u. A.G. BEARN
Isozymes of LDH in Human Tissues
J. Clin. Invest. 40, 586-591 (1961)

98 WACHSMUTH, E.D.
Wirkung von Ploidiestufen auf die Differenzierung von Enzymen am Beispiel der Lactatdehydrogenase-Isoenzyme des Menschen
Klin. Wschr. 43, 69-71 (1965)

99 WACHSMUTH, E.D. u. G. PFLEIDERER
Biochemische Untersuchungen an kristallinen Isoenzymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen Organen.
Biochem. Z. 336, 545-556 (1963)

100 WACHSMUTH, E.D., G. PFLEIDERER u. Th. WIELAND
Aminosäurezusammensetzung von Isozymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen und tierischen Organen.
Biochem. Z. 340, 80-94 (1964)

101 WEBER, G.
in:
Advances in Enzyme Regulation Vol 1
Pergamon Press New York 1963

102 WEBER, G.
in:
Advances in Enzyme Regulation
Vol 3
Pergamon Press New York 1965

103 WEBER, G. a. A. CANTERO
Fructose - 1,6 - diphosphatase and Lactic Dehydrogenase Activity in Hepatoma and in Control Human and Animal Tissues.
Cancer Res. 19, 763-768 (1959)

104 WIELAND, Th., u. G. PFLEIDERER
Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenasen verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese.
Biochem. Z. 329, 112-116 (1957)

105 WIELAND, Th., G. PFLEIDERER u. F. ORTANDERL
Lactat-Dehydrogenasen III. Vergleiche der Lactat-Dehydrogenasen aus verschiedenen Rattenorganen.
Biochem. Z. 331, 103-109 (1959)

106 WIELAND, Th., D. GEORGOPOULOS, H. KAMPE u. E. WACHSMUTH
Analytischer Beweis der Hybridennatur von Isoenzymen der Lactatdehydrogenasen.
Biochem. Z. 340, 483-486 (1964)

107 WIEME, R.J. et L. DEMENLENAERE
Enzymoelectrophorèse de la Déhydrogenase de l'acide lactique, test sélective d'intégrité parenchymateuse.
Acta gastro-ent. belg. 22, 69-72 (1959)

108 WROBLEWSKI, F. a. K.F. GREGORY
LDH Isoenzymes and their Distribution in Normal Tissues and Plasma and in Disease Status.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 912-932 (1961)

109 WÜST, H.
Isoenzyme der Lactatdehydrogenase (LDH) in der klinischen Diagnostik Methode der thermischen Inaktivierung.
Med. Welt 32, 1798-1806 (1965)

110 ZIEGENBEIN, R. Über Isoenzyme und ihre Bedeutung für die klinische Diagnostik. Das Deutsche Gesundheitswesen 18, 1391-1395 (1963)

111 ZUPPINGER, K.R. RICHTERICH u E. ROSSI Die diagnostische Bedeutung der Heterogenität der Serum-Lactatdehydrogenasen. Schw. Med. Wschr. 92, 169-172 (1962)

Herrn Professor Dr. G. Jung danke ich für die Überlassung des Themas und wertvolle Anregungen.

Herrn Dr. V. Unbehaun bin ich für seine freundliche Betreuung und beratende Hilfe sehr dankbar.

Außerdem bin ich dem Institut für Medizinische Biometrie (Direktor: Prof. Dr. M.P. Geppert) für die statistische Überprüfung der Ergebnisse zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

Am 13. 6. 1940 wurde ich, Bruno Waidmann, als zweiter Sohn des Balthasar Waidmann und seiner Frau Theresia geb. Walter in Mörsingen Kreis Saulgau geboren.

Von 1946 bis 1954 besuchte ich die Grundschule in Mörsingen. Danach arbeitete ich ein Jahr im elterlichen Betrieb.

Im April 1955 wurde ich in die dritte Klasse des Gymnasiums Riedlingen aufgenommen und legte im Februar 1962 die Reifeprüfung ab.

Im Frühjahr 1962 wurde ich zur Luftwaffe der Bundeswehr eingezogen.

Nach zweijährigem Wehrdienst mit Ausbildung zum Reserveoffizier begann ich im Sommersemester 1964 in Mainz mit dem Medizinstudium, legte dort 1965 die Naturwissenschaftliche und 1967 die Ärztliche Vorprüfung ab.

Mein Klinisches Studium absolvierte ich in Tübingen und beendete es im Sommersemester 1970 mit der Ärztlichen Prüfung.

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681